



THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. 52. Band.

Originale.

82

P_r

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Breslau

und

Geh. Reg.-Rat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. 52. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische, Parasitenkunde.

Originale.

Mit 19 Tafeln und 29 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1909.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 52. Heft 1.

Nachdruck verboten.

Verfütterungsversuche an grauen Hausmäusen mit einem erneuerten Stamme des Zieseltyphusbacillus (*Bacillus typhi spermophilorum*).

[Aus dem landwirtsch.-bakteriol. Laboratorium des Ackerbauministeriums zu St. Petersburg (Direktor: M. G. Tartakowsky).]

Von S. S. Mereshkowsky.

Der von mir in den Jahren 1893—1894 zur Vertilgung von Mäusen angewandte Zieseltyphusbacillus¹⁾ muß ohne Zweifel den Bakterien der Coli-Gruppe zugezählt werden²⁾. Da viele Vertreter dieser Gruppe sich durch eine große Unbeständigkeit ihrer pathogenen Eigenschaften auszeichnen und da der gegenwärtig in meinem Besitz befindliche Stamm dieses Bacillus aus einer 8 Jahre in verschlossener Flasche aufbewahrten Kultur her stammt, so ist die Frage berechtigt, ob infolge solcher Herkunft auch seine Virulenz sich nicht verändert hat.

Zur Lösung dieser Frage stellte ich die unten beschriebenen Versuche an.

Als Versuchsobjekt dienten mir graue Hausmäuse (*Mus musculus*), die dem Laboratorium aus verschiedenen Bezirken Petersburgs zugetragen wurden.

Infolge ihrer städtischen Herkunft mußten diese Mäuse oft mit verschiedenem Infektionsmaterial in Berührung kommen, insbesondere mit Bakterien der Coli-Gruppe, und besaßen infolgedessen, wie anzunehmen, eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen derartige Infektion, als die Landmäuse. Folglich muß man die Ergebnisse aus den unten beschriebenen Versuchen für desto beweisender in bezug auf die Landmäuse halten.

Die ins Laboratorium eingelieferten Mäuse wurden zu 30—50 Stück in einem Käfig gesammelt und dann eine gewisse Zeit bis zum Beginn des Versuchs in Quarantäne gehalten, um festzustellen, ob es unter ihnen nicht kranke oder beim Einfangen verletzte gibt. Falls einige von diesen Mäusen eingingen, was sehr selten und fast ausschließlich in den ersten 2 Wochen nach ihrer Aufnahme eintraf, so wurden aus ihren Organen Aussaaten gemacht, welche jedoch in den meisten Fällen steril blieben; wenn aber in denselben eine Entwicklung von Mikroorganismen stattfand, so waren es Bakterien, die leicht vom Bacillus des Zieseltyphus zu unterscheiden waren.

Bei Wahl der Infektionsmethode bei Virulenzprüfungen von Kulturen müßten subkutane und intraperitoneale Injektionen, welche eine leichte Dosierung der Kultur und eine genaue Feststellung des Beginnes der Infektion gestatten, vorgezogen werden. Da wir aber über entsprechende Daten zur Beurteilung des ursprünglichen Stammes dieses Bacillus vom Jahre 1893 bei dieser Infektionsmethode nicht verfügen und seinen Virulenz-

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 742; Bd. 20. 1896. No. 2/3 und Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. No. 1.

2) Daß die Beobachtungen B. L. Issatschenkos, welcher bei diesem Bacillus Sporen gesehen haben will, nicht beweisend sind, darauf habe ich andererseits hingewiesen. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 1.)

grad nur aus Verfütterungsversuchen kennen, so habe ich, um vergleichbare Resultate zu erhalten, die letztere Methode auch in den unten beschriebenen Versuchen angewandt.

Um sicher zu sein, daß der Infektionsstoff, welcher für jede Maus bestimmt war, tatsächlich verzehrt wurde, und außerdem, um das Annagen von Leichen und die Uebertragung der Krankheit durch Exkremente zu vermeiden, isolierte ich während des Versuches jede Maus in einem besonderen Käfig (welcher selbstverständlich vorher sterilisiert war).

Für die Infektion benutzte ich eine 24 Stunden im Brutschrank gehaltene Bacillenkultur, deren Virulenz, ebenso wie in meinen analogen Versuchen mit diesem Bacillus im Jahre 1893—1894, durch ununterbrochenes Verfüttern an Mäuse unterhalten wurde. Zu diesem Zwecke infizierte ich mit der Kultur gleichzeitig nur 2—3 Mäuse und erhielt aus dem Herzblute der eingegangenen durch Plattenverfahren eine Reinkultur, die ich wieder an die folgenden 2—3 Mäuse verfütterte usw.

Für eine richtige Beurteilung der Virulenz der Kultur war es wünschenswert, die Mäuse mit der minimalen tödlichen Dosis zu infizieren, weil bei großen Mengen auch eine wenig virulente Kultur tödlich wirken konnte, während kleine Gaben für kräftigere Individuen möglicherweise wirkungslos geblieben wären. Da aber die minimale tödliche Dosis für diesen Bacillus beim Verfüttern unbekannt ist und weil ich in meinen Versuchen im Jahre 1893—1894 im Mittel 1 ccm Bouillonkultur pro Maus verfüttert hatte, so beschloß ich auch jetzt, um vergleichbare Resultate zu erhalten, dieselbe Menge zu benutzen. Die genannte Dosis wurde mit 2 g Roggenmehl zu dickem Teig geknetet und in einem gläsernen Futternapf in den Käfig gestellt.

Da den Mäusen erst kurze Zeit vor dem Versuche ihr gewöhnliches Futter entzogen wurde, so verzehrten sie den infizierten Teig um so schneller, je hungriger sie waren und das ihnen ungewohnte Futter nicht fürchteten.

Bei den meisten Mäusen verschwand der Teig aus dem Futternapf im Laufe des ersten, nur in seltenen Fällen zum Beginn des dritten Tages.

Wenn der Teig verzehrt war, erhielten die Mäuse ihr gewöhnliches Futter.

Bei der Beobachtung, wie schnell der Teig verzehrt wird, bemerkt man zuweilen, daß die Mäuse ihn im Ganzen oder in Stücken aus dem Futternapf hervorziehen und auf dem Boden des Käfigs verstreuen. Ist der Boden fest, so können diese Stücke unserer Aufmerksamkeit nicht entgehen, besteht er aber aus Gitterwerk, durch welches kleine Stücke durchgehen, so kann man sie leicht übersehen, besonders wenn die Teigstücke aus dem Käfig herausfallen und von Mäusen oder Ratten, welche im Laboratorium frei herumlaufen, verzehrt werden. Da in diesem Falle die Versuchsmäuse keine Kultur aufnehmen und deshalb gesund bleiben, so kann es leicht vorkommen, daß man sie irrtümlicherweise für immun hält.

Mehrmals täglich wurde in den Käfigen nachgesehen, um rechtzeitig die toten Mäuse zu entdecken. Die gefundenen Leichen wurden seziert und bakteriologischer Untersuchung unterworfen.

Als Todesursache der Mäuse wurde der Zieseltyphusbacillus angesehen in dem Falle, wenn

1) beim Plattenverfahren aus ihren Organen Kolonien ausschließlich vom Typus der Coli-Bakterien sich entwickelten,

2) wenn beim Uebertragen von Mikroorganismen aus diesen Kolonien in Bouillon das für diesen Bacillus eigentümliche Wachstum¹⁾ erschien (Trübung der Bouillon, ein ziemlich festes, im ganzen oder in Stücken zu Boden sinkendes Häutchen),

3) wenn die Kultur, welche in solcher Weise aus den Leichen der gefallenen Mäuse gewonnen war, an gesunde graue Mäuse verfüttert, sich für dieselben als pathogen erwies.

Die aus diesen Versuchen sich ergebenden Resultate sind aus folgenden Tabellen zu ersehen:

Tabelle I.

Von 132 durch Verfüttern infizierten grauen Hausmäusen starben:									
am 1. Tage nach der Infektion	0 Maus	am 7. Tage nach der Infektion	30 Mäuse						
" 2. " " " "	1 "	" 8. " " " "	36 "						
" 3. " " " "	6 Mäuse	" 9. " " " "	17 "						
" 4. " " " "	1 Maus	" 10. " " " "	20 "						
" 5. " " " "	4 Mäuse	" 11. " " " "	3 "						
" 6. " " " "	10 "	" 12. " " " "	4 "						
Im ganzen 132 Mäuse.									

Es starben also von 132 infizierten Mäusen 132 oder 100 Proz.

Die mit dem ursprünglichen Stamm dieses Bacillus von mir in den Jahren 1893—1894 erzielten Ergebnisse sind aus folgender Tabelle zu ersehen²⁾:

Tabelle II.

Von 65 durch Verfüttern infizierten grauen Hausmäusen starben:												
am 1. Tage nach der Infektion					1 Maus	am 7. Tage nach der Infektion					11 Mäuse	
"	2.	"	"	"	2 Mäuse	"	8.	"	"	"	12	"
"	3.	"	"	"	0 Maus	"	9.	"	"	"	12	"
"	4.	"	"	"	1 "	"	10.	"	"	"	10	"
"	5.	"	"	"	2 Mäuse	"	11.	"	"	"	5	"
"	6.	"	"	"	0 Maus	"	12.	"	"	"	0	"
Im ganzen 65 Mäuse.												

Es starben also von 65 infizierten Mäusen 65 oder 100 Proz.

Beim Vergleichen dieser zwei Tabellen sehen wir, daß der gegenwärtig in meinem Besitz befindliche Stamm des Zieselytyphusbacillus, an graue Hausmäuse verfüttert, in demselben Grade virulent für sie ist und dieselben 100 Proz. Todesfälle ergibt, wie der Stamm vom Jahre 1893—1894.

Auch bei der bakteriologischen Untersuchung der in diesen Versuchen eingegangenen Mäuse fand ich den Bacillus wie im Jahre 1893 in der Leber, der Milz und im Herzblute in allen Fällen ohne Ausnahme.

Diese Ergebnisse berechtigen mich zu folgenden Schlüssen:

1) Für eigentümlich halte ich dasjenige Wachstum, welches in leicht alkalischer Bouillon erscheint. In saurer Bouillon fehlt das Häutchen, welches die Möglichkeit gewährt, eine Kultur des Zieselytyphusbacillus von Kulturen des Löfflerschen und Danyasz' Bacillus sicher zu unterscheiden. Die Bouillon habe ich nach folgender Vorschrift bereitet:

1 Proz. Liebig's Fleischextrakt.

1 Proz. Pepton Witte.

0,5 Proz. Kochsalz auf 100 Teilen gewöhnlichen Wassers.

Es ist notwendig, den Umstand im Auge zu behalten, daß zuweilen das Häutchen durch Erschütterung beim Herausnehmen des Probierröschens aus dem Brutschrank auf den Boden heruntersinkt. In solchen Fällen muß man, um es nicht zu übersehen, die Bouillon leicht umschütteln.

2) Centralbl. f. Bakteriolog. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 748.

1) Der Stamm des Zieseltyphusbacillus, welchen ich augenblicklich besitze, ist ebenso geeignet zum Vernichten von Mäusen, wie der ursprüngliche Stamm vom Jahre 1893.

2) Immunität gegen diesen Bacillus ist bei grauen Hausmäusen entweder gar nicht oder höchst selten vorhanden, da in diesen Versuchen von 132 und in den Jahren 1893—1894 von 65 Mäusen keine einzige sich als immun erwiesen hatte.

Nachdruck verboten.

Virulenz des erneuerten Stammes des Zieseltyphusbacillus (*Bacillus typhi spermophilorum*) bei subkutaner Injektion am Ziesel.

[Aus dem landwirtsch.-bakteriol. Laboratorium des Ackerbauministeriums zu St. Petersburg (Direktor: M. G. Tartakowsky).]

Von S. S. Mereshkowsky.

Der Bacillus des Zieseltyphus wurde von mir im Jahre 1893 aus Zieseln, welche in einer spontan unter ihnen ausgebrochenen Epizootie eingegangen waren, isoliert. Er erwies sich, wie Verfütterungsversuche zeigten, stark pathogen für Mäuse, dagegen vollkommen unschädlich für Haustiere und den Menschen¹⁾.

Da in meinen Versuchen im Jahre 1894 es mir gelang, Mäuse auf dem Felde, in Speichern, Schobern usw. mit Kulturen dieses Bacillus erfolgreich zu bekämpfen²⁾, so lag es nahe, letztere auch zur Vertilgung von Zieseln zu erproben. Leider konnte ich damals entsprechende Versuche nicht anstellen, und bald wurde ich sogar gezwungen, meine Arbeiten in dieser Richtung vollkommen zu unterbrechen. Erst im Jahre 1908, wo ich wieder am landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Ackerbauministeriums angestellt wurde, konnte ich zur Klärung dieser Frage schreiten. Jetzt lag aber die Sache weniger günstig als in den Jahren 1893—1894, da der Bacillus seit 1893 durch den Organismus von Zieseln nicht durchgeführt war und derjenige Stamm, mit dem ich operieren mußte, aus einer 8 Jahre in verschlossener Flasche aufbewahrten Bouillonkultur herstammte. Aus diesen Gründen war es sehr wahrscheinlich, daß dieser Stamm für Ziesel besonders beim Verfüttern sich wenig virulent erweisen und den Tod erst nach langer Zeit hervorrufen würde. Da ich aber wegen des nahenden Winterschlafes für Ziesel mit dem Beginn der Versuche eilen mußte, so beschloß ich, mich fürs erste mit subkutanen Impfungen zu begnügen und verschob die länger dauernden Fütterungsversuche auf eine günstigere Zeit.

Als Versuchsobjekt dienten mir Ziesel (*Spermophilus guttatus*), welche in kleiner Anzahl dem Laboratorium aus dem Gouvernement Cherson zugesandt waren.

Für den Impfversuch nahm ich jedesmal nur 2 Ziesel; aus dem Herzblut eines des eingegangenen gewann ich durch Plattenverfahren

1) Centralbl. f. Bakteriologie, etc. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 742.

2) Centralbl. f. Bakteriologie, etc. Abt. I. Bd. 20. 1896. Heft 2/3 und Centralbl. f. Bakteriologie, etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. Heft 1. p. 25.

die Reinkultur, welche für die Impfung der zweiten Serie diene usw. Auf diese Weise hoffte ich, nebenbei die Frage klarzustellen, ob nicht durch wiederholte Tierpassagen die Virulenz des Bacillus sich verstärkt.

Als Impfstoff benutzte ich eine Bouillonkultur, welche 24 Stunden im Brutschrank sich entwickelt hatte, zu 1 ccm auf jedes Tier.

Den ersten zwei Zieseln spritzte ich eine Reinkultur ein, welche aus dem Herzblut einer am 6. Tage nach Fütterungsinfektion eingegangenen Hausmaus gewonnen war. Diese Kultur erwies sich, wie ich an anderer Stelle hingewiesen¹⁾, beim Verfüttern an graue Hausmäuse ebenso virulent wie die vom Jahre 1893.

Aus der Leber, der Milz und dem Herzblute der eingegangenen Ziesel wurden Aussaaten in Bouillon gemacht. Die in derselben sich entwickelnden Mikroorganismen wurden für Zieseltyphusbacillen gehalten, 1) wenn in Gelatineplatten coliähnliche Kolonien sich entwickelten;

2) wenn in schwach alkalischer Bouillon beim Abimpfen aus diesen Kolonien nach 24-stündigem Stehen im Brutschrank eine Trübung und die Bildung eines ziemlich festen, leicht zu Boden sinkenden Häutchens stattfand;

3) wenn diese Bouillonkultur, an Mäuse verfüttert, bei denselben in spätestens 12 Tagen den Tod hervorrief.

Die Ergebnisse aus diesen Versuchen sind in folgenden Tabellen zusammengefaßt:

Tabelle I.

No. der Serie	No. des Ziesels	An welchem Tage nach der Infektion eingegangen	No. der Serie	No. des Ziesels	An welchem Tage nach der Infektion eingegangen	No. der Serie	No. des Ziesels	An welchem Tage nach der Infektion eingegangen
I	1	8	VII	13	8	XIII	25	3
	2	5		14	1		26	2
II	3	5	VIII	15	3	XIV	27	6
	4	2		16	5		28	5
III	5	2	IX	17	11	XV	29	3
	6	7		18	6		30	2
IV	7	1	X	19	9	XVI	31	6
	8	2		20	3		32	8
V	9	2	XI	21	8	XVII	33	3
	10	6		22	4		34	4
VI	11	3	XII	23	5			
	12	2		24	3			

Tabelle II.

Es gingen also ein											
am 1. Tage nach der Injektion	2 Ziesel					am 7. Tage nach der Injektion	1 Ziesel				
" 2. "	"	"	"	"	7 "	" 8. "	"	"	"	"	4 "
" 3. "	"	"	"	"	7 "	" 9. "	"	"	"	"	1 "
" 4. "	"	"	"	"	2 "	" 10. "	"	"	"	"	0 "
" 5. "	"	"	"	"	5 "	" 11. "	"	"	"	"	1 "
" 6. "	"	"	"	"	4 "						

Bei der Sektion der eingegangenen Ziesel waren krankhafte Veränderungen hauptsächlich am Orte der Injektion zu konstatieren; man bemerkte hier entweder Oedem und starke Hyperämie mit Blutaustritt aus den Kapillaren, oder in selteneren Fällen kleine Eiteransammlungen. Von anderen Organen war eine Vergrößerung der Milz vorhanden, zu-

1) Centralbl. f. Bakteriolog. etc. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 1.

weilen auch Hyperämie des Dünndarms, dessen Inhalt blutig gefärbt war.

In Aussaaten aus dem Herzblut, der Leber und der Milz der eingegangenen Ziesel erhielt ich immer eine Reinkultur des Zieselytyphusbacillus. Dasselbe ergab sich bei Untersuchung des Eiters an der Injektionsstelle; mikroskopisch konnte in demselben nur die Anwesenheit von Stäbchen festgestellt werden.

Aus diesen Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Ziesel (*Spermophilus guttatus*), welche subkutan mit dem Bacillus des Zieselytyphus infiziert werden, gehen am 1.—11. Tage nach der Infektion ein.

2) Die größte Sterblichkeit unter diesen Tieren bei subkutaner Infektion ist in den ersten 8 Tagen zu beobachten.

3) Bei subkutaner Impfung verbreitet sich der Zieselytyphusbacillus sehr schnell im ganzen Organismus des Versuchstieres; er findet sich in der Leber, der Milz und dem Herzblute bei Zieseln, die am ersten Tage nach der Impfung eingegangen sind.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Struktur der sogenannten „Passagewutkörperchen“ von Lentz.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium zu Perm, Rußland.]

Von Dr. S. Kozewaloff.

In den Hirnen von Kaninchen, die nach Impfung mit Virus fixe verendeten, fand Lentz¹⁾ in den Zellen des Ammonshorns Negrische Körperchen nur in 50 Proz. der Fälle. Bei seinen Untersuchungen über Negrische Körperchen bei an Virus fixe verendeten Kaninchen entdeckte er besondere Gebilde, die viel häufiger angetroffen werden als die Negrischen Körperchen, und von diesen sich wesentlich unterscheiden. Er sah diese Gebilde sowohl zusammen mit den Negrischen Körperchen, wie auch in solchen Hirnen, in welchen die Negrischen Körperchen nicht vorhanden waren.

Lentz beschreibt diese Gebilde folgenderweise: „In der Regel ovale oder spindelförmige, seltener rundliche Körperchen, deren Grundsubstanz die Eosinfärbung angenommen hat, und die im Innern meist mehrere klumpige Anhäufungen dunkelblau gefärbter Plastinsubstanz aufweisen. Von den Negrischen Körperchen unterscheiden sie sich durch ihre Größe. Während die Negrischen Körperchen bei Kaninchen in der Regel kleiner sind als ihre roten Blutkörperchen, übersteigen diese Gebilde die Größe der roten Blutkörperchen beinahe 1½ bis 2 Mal. Ein weiterer Unterschied ist aus der Struktur der Innenkörperchen bemerkbar; diese sind bei den Negrischen Körperchen klein, scharf umschrieben und punktförmig, bei den neuen Gebilden sind sie groß und massig. Die Negrischen Körperchen liegen stets im Innern relativ gut er-

1) Lentz, Ueber spezifische Veränderungen an den Ganglienzellen wut- und staupekranker Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61. H. 1.)

haltener Zellen; die Lentzschen Gebilde scheinen auf den ersten Blick ganz frei im Gewebe zu liegen, und nur bei genauerem Studium erkennt man, daß sie einen feinen Saum von blaßblau gefärbtem Protoplasma aufweisen. Kurz, die neuen Gebilde sind scharf von den Negrischen Körperchen zu unterscheiden. Die Lentzschen Abbildungen sind nach Präparaten, die nach seiner Methode und auch mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt waren, angefertigt.

Lentz fand die Gebilde, die er als „Passagewutkörperchen“ bezeichnet, in 86 Proz. der Ammonshörner von Kaninchen, die nach Impfung mit Berliner Virus fixe verendeten (im ganzen wurden 43 Fälle untersucht). Bei Kaninchen, die mit Virus fixe Fermi (d. h. von Prof. Fermi aus Sassari bezogen) geimpft wurden, waren Passagewutkörperchen in 73 Proz. der Fälle nachweisbar (15 Fälle). Er hat niemals diese Gebilde im Ammonshorn von Hunden, die an Straßenvirus zugrunde gegangen sind, wie bei Hunden oder Kaninchen, die durch andere Krankheiten verendeten, gefunden.

Bei Kaninchen, die nach Impfung mit Straßenvirus gestorben sind, fanden sich Passagewutkörperchen in 5 Proz., bei Kaninchen, die mit Virus der 2. Passage geimpft waren, in 31 Proz. der Fälle.

Die Herkunft dieser Gebilde betrachtet Lentz als Folge eines Degenerationsprozesses in dem Protoplasma des Zellkernes durch die Einwirkung des spezifischen Wutvirus. Die Negrischen Körperchen entstehen, nach der Ansicht des Autors, als Resultat eines analogen Prozesses, der sich aber in dem Protoplasma der Zelle abspielt. Beide Gebilde bestehen aus Plastin und Chromatin, die unter der Einwirkung des spezifischen Reizes sich in gewisser Weise differenzieren. An den Kernkörperchen der Zellen sind alle Uebergänge von einfacher Teilung oder Abspaltung einzelner Partikel bis zu vollständiger Zerkümmerung, sodann aber eine klumpige Zusammenballung dieser Trümmer zu sehen. Bei diesem Vorgang zeigt es sich, daß die im Protoplasma vorhandene, die Methylenblaufarbe aufnehmende Plastin-substanz in Klumpen zerfällt, während das Kernstroma, das nur aus Chromatin besteht, die Eosinfarbe annimmt.

Bei diesem Vorgang schrumpft der Kern zusammen, so daß die Passagewutkörperchen kleiner als der Kern erscheinen. Gleichzeitig geht hiermit eine schwere Degeneration des Zellprotoplasmas einher, deren Folge ist, daß die Passagewutkörperchen entweder freiliegen oder nur noch von geringen blaßblau gefärbten Protoplasma-resten umgeben sind.

Lentz bestreitet den parasitären Charakter der von ihm entdeckten Gebilde sowie der Negrischen Körperchen.

Meine Untersuchungen wurden an Ammonshörnern von Kaninchen, die durch Impfung mit Breslauer resp. Berliner Virus fixe verendeten, ausgeführt. Ich habe also mit demselben Material wie Lentz manipuliert.

Dieses Virus besitzt eine 7-tägige Inkubationszeit; der Tod erfolgt am 9., 10. Tag. Ich untersuchte schon fertige, aus Breslau mitgebrachte, in Paraffin eingebettete Stückchen. Bearbeitung mit Aceton. Alles Nachstehende bezieht sich also auf Veränderungen der Zellen des Ammonshorns, die durch das Breslauer resp. Berliner Virus fixe hervorgerufen sind.

Ich habe folgende Färbungsmethoden angewandt:

No. 1, Färbung mit Eosin und Methylenblau nach Lentz.

No. 2, Färbung mit Mansons Methylenblau 1 Minute mit nach-

folgender intensiver Entfärbung in Methyl-Alkohol, bis die Zellenzüge des Ammonshorns makroskopisch als blaßblaue Linien erscheinen.

No. 3. Färbung mit Löfflers Methylenblau unter Erwärmung bis zur Dampfbildung — 1 Minute. Entfärbung während einiger Sekunden in 0,25-proz. Salzsäure-Alkohol. Wasserspülung.

No. 4. Färbung mit sehr verdünnter Giemsa-Lösung (1 Tropfen des Farbstoffes auf 20 ccm destillierten Wassers) 20 Stunden mit nachfolgender Wasserspülung. Die nach Giemsa gefärbten Präparate wurden nicht in Kanadabalsam, sondern in Immersionsöl (Cedernöl) eingebettet.

In den nach Lentz gefärbten Präparaten sind nicht nur die von ihm beschriebenen, typischen Figuren zu sehen, sondern auch allmähliche Uebergänge von normalen Kernen zu diesen Figuren. Die Lentzschen Gebilde zeigen eine verschiedenartige Form und Größe, einen rosa gefärbten Hintergrund, in welchem eine tiefblau gefärbte Substanz eingelagert ist; die tiefblaue Farbe ist eben diejenige, welche die Kernkörperchen gewöhnlich annehmen. Diese Substanzanhäufungen — die Innenkörperchen der Lentzschen Gebilde — zeigen eine kugelige oder klumpige Form. Ihre Größe ist sehr verschieden, von einem kaum bemerkbaren Punkte bis zur Größe eines roten Blutkörperchens. Ihre Zahl schwankt zwischen 1—10 und mehr, wobei neben einigen größeren sich viele kleine finden. Zuweilen zeigen diese Innenkörperchen eine symmetrische Lagerung, die einigermaßen an die Lagerung in den Negrischen Körperchen erinnert.

Sowohl aus Lentz' Schilderung, als auch aus den seiner Arbeit beigefügten Abbildungen ist zu ersehen, daß neben den typischen Passagewutkörperchen Zellen angetroffen werden, in deren Kernen die Differenzierung in Chromatin und Platin sich endgültig noch nicht vollzogen hat; in diesen Zellen nehmen noch die Kerne die Färbung mit Methylenblau auf; gleichzeitig aber zeigen sie Anhäufungen von Klumpen, die intensiver blau gefärbt sind als die übrige Kernsubstanz. Auch in meinen Präparaten sind neben den typischen Lentzschen Figuren Zellen zu sehen, deren Kerne die Fähigkeit, Methylenblau aufzunehmen, noch nicht verloren haben, und mit gut konserviertem Zellprotoplasma umgeben sind, während innerhalb der Kerne dieselben Innenkörperchen wie in den Lentzschen Gebilden vorhanden sind. Ferner kommen Fälle vor, bei welchen typische Passagewutkörperchen von Lentz in sehr geringer Anzahl anzutreffen sind, während fast alle Zellkerne in einem bestimmten Abschnitte des Zellenzuges im Ammonshorn mit den eben beschriebenen Gebilden vollgepfropft sind.

Es gibt folglich Kerne, die die Fähigkeit, sich mit Methylenblau zu färben, verloren haben und Eosin aufnehmen; diese veränderten Kerne sind gewöhnlich von Zellprotoplasma nicht umgeben. Neben diesen gibt es auch solche Kerne, die sich gut mit Methylenblau färben und in Zellen mit erhaltenem Protoplasma eingelagert sind. Aber in beiden Arten von Kernen sind vollkommen gleiche Anhäufungen dunkelblau gefärbter Substanz zu beobachten.

Meiner Ansicht nach ist nicht das endgültige Stadium des Prozesses, wenn die veränderten Kerne bei der Färbung nach Lentz aus Anhäufungen von tiefblau gefärbter Substanz auf rosagefärbtem Hintergrund bestehen, in erste Reihe zu stellen; vielmehr besteht meiner Meinung nach das Charakteristische der Kernveränderung in der Bildung von Klumpen und Kugeln, die sich sowohl in anscheinend wenig veränderten, als auch in völlig degenerierten Kernen vorfinden.

Ich möchte daher als Passagewutkörperchen nicht diejenigen von Lentz beschriebenen Figuren in toto bezeichnen, sondern nur ihre Innenkörperchen, die sich auch in verhältnismäßig wenig veränderten Kernen finden. Im nachstehenden werde ich daher die Bezeichnung „Passagewutkörperchen“ in diesem letzteren Sinne gebrauchen.

Die Passagewutkörperchen sind in der größten Anzahl in demjenigen Abschnitte des Zuges der großen Nervenzellen im Ammonshorn zu finden, auf welchen Lentz hinweist. An dieser Stelle sind häufig alle Zellen vollgepfropft mit diesen Gebilden. Je weiter von dieser Stelle, desto seltener sind sie anzutreffen; sie finden sich in einzelnen Zellen, die unter anderen anscheinend normalen Zellen gelagert sind; auch die Zahl der Gebilde in den einzelnen Kernen wird geringer. In manchen Zellen scheinen sie sich aus dem Kernkörperchen zu bilden, wobei das letztere in 2—3 Teile zerfällt.

Schon in nach Lentz gefärbten Präparaten bei starken Vergrößerungen ist zu erkennen, daß die Passagewutkörperchen keine formlosen Klumpen darstellen, wie sie Lentz beschreibt; sie lassen eine gewisse Differenzierung erkennen; der periphere Teil erscheint in einzelnen Stellen dunkler gefärbt als der übrige Teil des Körperchens. Diese Differenzierung tritt sehr deutlich hervor bei den Färbungen nach den Methoden No. 2, 3 und 4. Bei diesen Methoden wird das Zellprotoplasma entweder stark entfärbt (No. 2 und 3) oder der Einwirkung einer sehr schwachen Farblösung unterworfen (No. 4). Man sieht dabei, daß die Passagewutkörperchen aus zwei gesonderten Teilen bestehen, aus einer hellblau gefärbten Grundsubstanz und Einschließungen, die in der Grundsubstanz liegen und schwarz oder tiefblau gefärbt sind. In den nach den Methoden 2 und 3 gefärbten Präparaten ist das Zellprotoplasma blau, die Zellkerne sind fast farblos, die Kernkörperchen (Nucleoli) sind hellblau, die Lentz'schen Figuren zeigen einen fast entfärbten Hintergrund (sonst bei der Färbung nach Lentz rosa). In den in diesen Gebilden sowie in den Kernen erhaltenen Zellen sind hellblaue Kugeln zu sehen (Innenkörperchen nach Lentz, Passagewutkörperchen nach meiner Terminologie), die scharf begrenzte, tiefblau oder schwarz gefärbte Einschließungen enthalten; größtenteils zeigen diese letzteren die Form von Stäbchen oder Sicheln, stellenweise erscheinen sie auch in Form von Punkten und Spindeln. Charakteristisch für sie ist die Lagerung an der Peripherie der Körperchen. Größtenteils sind sie vereinzelt in den Körperchen gelagert; es kommen aber auch Körperchen vor mit 2 oder 3 an der Peripherie liegenden Punkten oder Stäbchen.

Bei der Färbung nach der Methode No. 4 erscheint das Zellprotoplasma violett gefärbt, die Zellkerne sind schwächer gefärbt, die Lentz'schen Figuren zeigen eine leichte rosa Farbe. Man sieht hellblaue Kugeln, und in denselben die obenerwähnten Stäbchen, Sicheln und Punkte.

Wir sehen also, daß das, was Lentz als formlose Klumpen von Platin beschreibt, in der Tat Gebilde darstellt, die eine regelmäßige kugelige Form haben und Einlagerungen enthalten, die sich anders färben als die sie einschließende Substanz und scharf von ihr getrennt sind. Es läßt sich in den Präparaten die Entstehung dieser Kugeln aus Kernkörperchen verfolgen. Man sieht zuweilen guterhaltene Zellen, in welchen man deutlich Protoplasma und Kern unterscheiden kann, und in dem Kern ist ein Kernkörperchen, das etwas vergrößert zu sein scheint, von fast kugeligter Form und an der Peripherie ein scharf begrenztes Stäbchen

enthält, zu sehen. In anderen Zellen kann man im Kern zwei solche Gebilde, die anscheinend durch Teilung des Kernkörperchens entstanden sind, auffinden, und in jedem dieser Gebilde an der Peripherie je eine durch ihre scharfe Färbung hervortretende Einschließung bemerken.

Schließlich sind vollständig veränderte, vom Zellprotoplasma nicht mehr umgebene Kerne zu sehen, die von vielen Körperchen mit ihren charakteristischen Einschließungen bedeckt sind.

Auf Grund der vorliegenden Beobachtungen und der Untersuchungen von Lentz sind folgende Schlußsätze gestattet:

1) Unter der Einwirkung des Breslauer resp. Berliner Virus fixe entstehen in Nervenzellen des Ammonshorns von Kaninchen charakteristische Veränderungen, die ihren Ausgangspunkt in den Zellkernen nehmen. Diese Veränderungen bestehen in Anhäufungen einer mit Methylenblau sich färbenden Substanz (Plastin). Diese Gebilde, die man als Passagewutkörperchen bezeichnen kann, finden sich sowohl in völlig degenerierten Zellkernen als auch verhältnismäßig gut erhaltenen Kernen, die mit Zellprotoplasma umgeben sind. Sie entstehen offenbar aus den Kernkörperchen.

2) Die Passagewutkörperchen differenzieren sich bei bestimmten Färbungsmethoden in zwei Teile, eine Grundsubstanz aus Plastin und in derselben liegenden Einschließungen, welche die Form von Stäbchen, Sichel und Punkten haben, und peripherisch gelagert sind.

Aehnliche charakteristische Einschließungen konnte ich in manchen Negrischen Körperchen im Ammonshorn von Kaninchen, die nach Impfung mit Straßenwut verendeten, beobachten. In den Fällen nämlich, wo die Negrischen Körperchen und ihre Innengebilde größere Dimensionen aufweisen, kann man bei Anwendung der erwähnten Färbungsmethoden an der Peripherie der Innkörperchen dunkelblau gefärbte Stäbchen und Punkte sehen. Sie sind jedoch etwas kleiner als diejenigen, die in den Passagewutkörperchen enthalten sind.

Die von mir beschriebenen Gebilde erinnern in ihrer Struktur an diejenigen pathogenen Mikroorganismen, welche Prowazek mit dem Namen *Chlamydozoa* belegt und zwischen den Protozoen und Bakterien eingereiht hat. Eine der charakteristischen Eigenschaften dieser Mikroorganismen besteht in der Bildung einer sie umgebenden kugelhähnlichen Hülle aus Kernsubstanz¹⁾.

Als Haupthindernis zur Anerkennung der parasitären Natur der Passagewutkörperchen und der Innengebilde der Negrischen Körperchen kann die Tatsache, daß sie nur in beschränkten Stellen des Nervensystems gefunden werden, angeführt werden. Es ist jedoch möglich, daß diese Mikroorganismen an anderen Stellen des Nervensystems entweder überhaupt keine Kapseln bilden oder diese Kapseln doch so klein sind, daß sie der Beobachtung entgehen.

Jedenfalls kann die Behauptung Lentz', daß die von ihm be-

1) Prowazek, *Chlamydozoa*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 10.)

schriebenen Gebilde und die analogen Negrischen Körperchen auf Grund ihrer Struktur nicht parasitärer Natur seien, nicht akzeptiert werden.

Ich habe in der letzten Zeit Untersuchungen über Veränderungen, die in den Zellen des Ammonshorns von Kaninchen durch das hiesige (Permer) Virus fixe hervorgerufen werden, angestellt. Diese Untersuchungen sind zurzeit noch nicht abgeschlossen; es hat sich aber schon jetzt gezeigt, daß die Veränderungen, die durch dieses Virus erzeugt werden, einen anderen Charakter besitzen.

Sollte sich diese Tatsache bestätigen, so wird dadurch die Richtigkeit der Anschauung bewiesen sein, daß Virus fixe von verschiedenen Wutstationen sich nicht nur durch seine biologischen Eigenschaften (letzteres wurde zuerst von Fermi ausgesprochen und von Schindler, Kraus, Marie und Remlinger bestätigt), sondern auch durch seine morphologischen Besonderheiten unterscheidet.

Perm, im März 1909.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur experimentellen Carcinomforschung.

Von Dr. Otto Schmidt in Köln.

I. Experimentell erzeugte Tumoren.

Seit meiner letzten Veröffentlichung (1) über diesen Gegenstand sind 2 weitere Fälle von experimentell, durch Injektion meiner Reinkulturen erzeugten malignen Geschwülsten zur Beobachtung gekommen, so daß sich die Gesamtzahl auf 10 erhöht, darunter 9 eigene und 1 aus der Heidelberger Chirurgischen Klinik von Baisch beschriebener.

Bevor ich zur Besprechung dieser letzten Ergebnisse meiner Untersuchungen übergehe, muß ich kurz zu einer Äußerung C. Lewins (2) über meine früher berichteten Versuche Stellung nehmen. In dem Kapitel seines Buches, welches von den spezifischen Erregern der malignen Tumoren handelt, sagt er wörtlich: „Indessen wird man doch den Angaben O. Schmidts so lange mit Mißtrauen gegenüberstehen müssen, als er nicht durch genauere Angaben möglich macht, seine Experimente und Kulturversuche nachzuprüfen. Alle seine Angaben über die Kulturen seiner Parasiten haben sich bisher nicht bestätigt.“ Es ist mir ganz unerfindlich, wodurch Lewin zu diesen Behauptungen veranlaßt wird, und womit er sie stützen will; sie entsprechen den Tatsachen in keiner Weise. Ich habe über meine Untersuchungen in verschiedenen meiner früheren Publikationen (3) so ausführliche Mitteilungen gemacht, daß jeder Nachuntersucher imstande ist, sie nachzuprüfen. Daß es mir durchaus fernlag, irgendetwas zu verschweigen, habe ich auch dadurch bewiesen, daß ich in der Heidelberger Chirurgischen Klinik Exzellenz Czerny und seinen Assistenten bei mehrmaliger, sich über viele Wochen erstreckender Anwesenheit, meine Versuche, von der Züchtung des Parasiten aus den Geschwülsten bis zu den Immunisierungsversuchen beim Menschen, vorführte. Baisch (4), dessen Arbeit ja

Lewin nicht fremd ist, hat alle einschlägigen Untersuchungen mit mir gemeinsam durchgearbeitet und auch seinerseits in seiner Veröffentlichung die Art meines Vorgehens eingehend beschrieben.

Den Tatsachen nicht entsprechend ist auch Lewins Behauptung, daß meine Angaben über die Kultur meiner Parasiten sich bisher nicht bestätigt hätten. Es ist bis jetzt nur eine Nachprüfung meiner Untersuchungen angestellt worden, eben nur durch Baisch. Und Baisch berichtet ausdrücklich, daß bei 7 von 30 Tumoren *Mucor*-Entwicklung in den Kulturen beobachtet werden konnte. Das ist aber der eine springende Punkt meiner Theorie. Der zweite ist, daß mit Reinkulturen eines aus menschlichen Carcinomen oder Sarkomen gezüchteten *Mucor* bei Tieren maligne Geschwülste erzeugt werden können. Daß mir der Beweis für diese Behauptung vollständig gelungen ist, wird heute wohl von niemandem mehr, auch nicht von Lewin, soweit sich nach dem Wortlaut seiner Ausführungen schließen läßt, angezweifelt. Er bezweifelt nur die spezifische Natur des Parasiten, ein Punkt, auf welchen ich später noch zurückkommen werde.

Kurz eingehen muß ich hier noch auf die Bemerkung Lewins: „Auch Schuberg, den O. Schmidt als Gewährsmann für seinen Schimmelpilz heranzieht, lehnt es ab, sich irgendwie für eine derartige Anschauung ausgesprochen zu haben.“ Auch das widerspricht den Tatsachen. Schuberg (3) sagt ausdrücklich: „Wenn genügend häufige Wiederholung des Experimentes (durch Injektion der *Mucor*-Kulturen in gesunde Mäuse und Ratten echte Tumoren an der Impfstelle zu erzeugen) unter Ausschluß jeder Zufälligkeit usw., diese Tatsache wirklich einwandfrei sicherzustellen vermag, so wäre das meines Erachtens von großer Wichtigkeit. Wenn ich auch den Anschauungen Schmidts über die Protozoennatur der mir gezeigten, von ihm als solche gedeuteten Gebilde nicht beizupflichten imstande bin, so halte ich es doch für notwendig und wünschenswert, diese bestimmte Angabe über die Erzeugung von Tumoren durch Einimpfung seiner *Mucor*-kulturen durch gleiche Versuche eingehend nachzuprüfen.“

Schubergs Einspruch betrifft also einen ganz anderen Punkt meiner Angaben, als Lewin darstellt; er wendet sich nur gegen meine Deutung verschiedener, im *Mucor* und in den Geschwülsten vorkommender Gebilde als Protozoen. Ich möchte da vorab bemerken, daß ich niemals von Protozoen, sondern nur von protozoenähnlichen Mikroorganismen gesprochen und ausdrücklich erklärt habe, daß es einstweilen noch nicht möglich sei, ihre Stellung im System zu bestimmen, daß ich aber geneigt sei, sie zu den Mycetozoen zu rechnen. Dann darf nicht übersehen werden, daß die Ungunst der Verhältnisse es mit sich brachte, daß Schuberg Formen, die ich als mit unverkennbarer Eigenbewegung und Metabolie behaftet im Mikroskope eingestellt hatte, erst nach Stunden sehen konnte, zu welcher Zeit sie abgestorben waren. Das, was sich in einem derartigen Präparat noch vom Leben der amöboiden Formen eines obligaten Parasiten abspielt, kann doch nur eine letzte Zuckung sein. Uebrigens stehe ich mit meinen Beobachtungen nicht allein. Baisch konnte bei seiner Nachuntersuchung deutliche Form- und Ortsveränderung der in Rede stehenden Gebilde nachweisen. Daß das letzte Wort in der Sache noch nicht gesprochen ist, dürfte auch aus seiner Angabe hervorgehen, daß von den zugezogenen Pathologen und Zoologen kein einstimmiges Urteil über die Natur der verschiedenartigen Formen abgegeben werden

konnte, ob es sich dabei tatsächlich um Entwicklungsformen protozoenartiger Gebilde handle.

Zu der von mir aufgestellten Theorie selbst bemerkt Schuberg: „Dagegen habe ich ganz davon abgesehen, die Möglichkeit seiner Theorie an der Hand der von anderen Protozoen bekannten Entwicklungszyklen zu beurteilen. Obwohl gar mancherlei zu Bedenken Anlaß gibt, halte ich es für richtiger, dies zu unterlassen, und zwar nicht nur aus meinen Erfahrungen an Schmidts Präparaten, sondern auch aus Erwägungen grundsätzlicher Natur. Die Erfahrung hat gezeigt, daß die Mannigfaltigkeit in der Entwicklungsweise der Organismen eine ganz außerordentlich große ist, und daß es daher nicht angeht, die Möglichkeit eines erst noch zu erforschenden Entwicklungszyklus auf Grund der bekannten Entwicklung anderer Organismen zu beurteilen.“

Die im *Mucor racemosus* — ich rede selbstverständlich nur von meinen aus malignen Tumoren reingezüchteten Stämmen — vorkommenden, von mir als protozoenartig gedeuteten Gebilde erklärt Schuberg für Fetttröpfchen. Dem muß ich entschieden widersprechen. Es ist auch mir nicht unbekannt, daß zahlreiche Fettkügelchen im *Mucor*, hauptsächlich in den Gemmen, vorkommen; sie lassen sich durch Alkohol und Aether zerstören, während meine Körperchen erhalten bleiben. Schon dies, mehr aber noch ihre Fähigkeit, Kernfarbstoffe aufzunehmen, unterscheidet sie von Fett. Sehr gute Bilder gibt die Gram-Färbung, die besten eine modifizierte Färbung nach Romanowsky-Giemsa, wobei sie einen dunkelvioletten Farbenton annehmen. Als ich Schuberg meine Präparate demonstrierte, waren meine Untersuchungen noch nicht bis zu diesem Punkte vorgeschritten; ich wählte deshalb, um die in Frage stehenden Gebilde besser zu veranschaulichen, eine Lebendfärbung mit Neutralrot. Wären mir die Untersuchungen von Kölsch (6), wonach Fett den Farbstoff des Neutralrot in sich aufspeichert, bekannt gewesen, so würde ich einen anderen gewählt haben. Uebrigens bewies die Tatsache, daß die Körperchen Neutralrot aufnahmen, doch nur, daß sie Fett sein können; sie können aber auch parasitäre Gebilde sein, denn auch diese färben sich mit Neutralrot.

Nicht ganz von der Hand zu weisen ist ferner die Möglichkeit, daß der *Mucor racemosus* selbst als Erreger wirkt. Man müßte dann annehmen, daß er bei seinem Auftreten als Parasit eine von der gewöhnlichen ganz verschiedene Form und Größe annimmt und seine vegetativen Organe verliert, was gerade bei diesem Pilze, von dem jetzt schon ein großer Formenreichtum bekannt ist, kaum in Erstaunen setzen würde.

Bei meinen Impf- und Immunisierungsversuchen bin ich so verfahren, als ob der *Mucor* selbst tatsächlich als Erreger maligner Tumoren zu betrachten sei; doch bemerke ich, um keinen Irrtum aufkommen zu lassen, daß positive Resultate nur mit Stämmen erzielt werden konnten, die aus Carcinomen resp. Sarkomen gezüchtet waren. Versuche mit *Racemosus* anderer Herkunft blieben stets resultatlos.

Fall I. Im September 1907 impfte ich 20 weiße Ratten mit einer Kultur meines Stammes III, und zwar 10 Stück subkutan und 10 intraperitoneal. Von letzteren zeigte ein weibliches Tier im April 1908 Krankheitserscheinungen, speziell starke Abmagerung, und ließ sich bei der Untersuchung folgendes feststellen: An 6 verschiedenen Stellen der Körperoberfläche sitzen in der Subcutis linsen- bis erbsengroße

Knötchen, die teilweise blaurot durch die Haut durchscheinen. Ihr Sitz ist: 2 an der Bauchseite, rechts und links in der Nähe der letzten Rippen, eines im Rücken in der linken Nierengegend, ein viertes über dem linken Schulterblatt und das fünfte und sechste in der Halsgegend. Bei der Betastung des Bauchinhaltes des trächtigen Tieres ließ sich oberhalb des Uterus noch die Existenz eines harten Knotens feststellen. Die Obduktion ergab einen überkirschgroßen Tumor, dem Dickdarm fest aufsitzend; er bot makroskopisch das Bild einer Geschwulst, die zum größten Teil aus mit geronnenem Blut gefüllten Cysten besteht. In der Peritonealhöhle fand sich etwa ein Eßlöffel voll klarer, nicht geröteter Flüssigkeit; die beiden Uterushörner bargen eine Anzahl halb ausgetragener, frisch abgestorbener Föten. Ihr Tod war durch starke Blutung in den Fruchthalter veranlaßt. Von den subkutan liegenden Knötchen glichen 4 dem Abdominaltumor, 2 bestanden aus einem weichen, homogenen, weißlichen Gewebe ohne bluthaltige Cysten.

Herr Professor M. B. Schmidt aus Zürich, dem ich auch an dieser Stelle dafür verbindlichst danke, hatte die Güte, die mikroskopische Untersuchung vorzunehmen. Ich zitiere seinen Bericht wörtlich: „Die weichen Tumoren und die blutcystenhaltigen gehören ganz zusammen; letztere sind nur hämorrhagische Exemplare mit sonst gleicher Struktur, nämlich der des großzelligen Rundzellensarkoms. Die bluthaltigen Cysten haben nirgends eine eigene Wand, sondern sind mehr oder weniger stark hämorrhagisch zertrümmertes Sarkomgewebe. Die Sarkomzellen sind in Form und Größe den Myelocyten recht ähnlich, rund oder leicht eckig mit oft exzentrisch liegendem Kern; keine deutliche Intercellularsubstanz.

Der „Primärtumor“ liegt auf der Außenseite des Dickdarms im Fettgewebe entwickelt, zum Teil derselben unmittelbar aufliegend; an einer, wohl einem Gefäßdurchtritt entsprechenden, Lücke der Muskulatur reicht das Tumorgewebe bis an die Submucosa heran, ohne Uebergang in dieselbe. Auch in die Muskulatur ist es nirgend eingewachsen. Schleimhaut und Submucosa intakt. Der ganze Tumor besteht aus mehreren rundlichen Knoten, die durch Bindegewebe zusammenhängen. In das umgebende Fettgewebe wächst er stellenweise infiltrierend vor. In dem Tumorgewebe eingestreut liegen zahlreiche, mit Kernfarbe gefärbte Kügelchen verschiedener Größe, wohl Produkte der Caryorrhesis (wenn nicht etwa Bestandteile der geimpften Kultur?).

An den zwei kleineren „Metastasen des Primärtumors“ dieselbe Struktur und seitlich anhängend ein Stück fettdurchwachsender Speicheldrüse; an dem einen Stück ist beides voneinander abgegrenzt durch quergestreifte Muskulatur und Bindegewebe, am anderen findet sich keine Grenze, sondern mitten im Tumor liegen Ausführungsgänge eingeschlossen; in letzterem Knötchen keine Hämorrhagien; in ersterem der Hauptteil intensiv hämorrhagisch infiltriert und hämorrhagisch zertrümmert bis zu seiner bindegewebigen Kapsel hin; aber eine vollkommene Cystenbildung besteht nicht, denn überall ziehen noch Blutgefäße durch die hämorrhagische Partie.“

Die erste Transplantation auf 20 Ratten desselben Stammes hatte ein positives Ergebnis in Höhe von 21 Proz.; in der zweiten Impfgeneration wurden 33 $\frac{1}{3}$, in der dritten 42, in der vierten 50, in der fünften 66 $\frac{2}{3}$, in der sechsten 60, in der siebenten 90 Proz. und in der achten 100 Proz. Ausbeute erzielt. Zu dieser Zeit hatte sich aber nicht nur die Fähigkeit der Tumorzelle, im neuen Organismus festen Fuß zu

fassen, vollkommen ausgebildet, es hatte auch die Schnelligkeit der Proliferation der Zellen, das Größenwachstum in einer Zeiteinheit, bedeutend zugenommen. Wie außerordentlich hier aber individuelle Einflüsse mit ins Spiel kommen, dürfte daraus zu ersehen sein, daß in der zwölften Generation, welche ebenfalls 100 Proz. Impfausbeute aufwies, bereits am 11. Tage nach der Transplantation ein Tumor die Größe von rund 30 mm in allen drei Dimensionen hatte, während der kleinste erst eben als stecknadelkopfgroßes Knötchen zu fühlen war.

Die histologische Beschaffenheit der Tumoren der späteren Generationen ist dieselbe, wie diejenige des Primärtumors; große Partien der Geschwülste sind durch ausgetretenes Blut zertrümmert und bestehen makroskopisch fast ganz aus Blutcysten. Daneben kommt von Zeit zu Zeit ein ganz solider Tumor vor.

Der auffallendste Befund bei der Stammmratte, die mehrere Monate nach Injektion der Reinkulturen erkrankte, war die Multiplizität der Tumoren. Mehrfache Spontantumoren sind überhaupt noch nicht oder doch selten beschrieben worden; wenigstens habe ich keinen Fall in der Literatur gefunden. Diese Sachlage führt sehr in Versuchung, sie als Stütze der parasitären Theorie auszunützen: Die in die Bauchhöhle deponierten Erreger gelangten in die Blutbahn, durch Vena cava, Herz und kleinen Kreislauf in die Aorta, um zum Schluß in Kapillaren des subkutanen Bindegewebes stecken zu bleiben. Es wäre dabei sogar die Forderung Orths, daß ein bestimmter Erreger immer denselben Geschwulsttypus erzeugt, erfüllt. Mich bestimmt aber gerade die Gleichartigkeit des histologischen Befundes, anzunehmen, daß es sich bei den 6 Knoten im Unterhautzellgewebe um Metastasen handelt, d. h. daß hierhin Zellen des Primärtumors verschleppt wurden. Wir haben also den kirschgroßen Knoten am Dickdarm wohl als Primärherd anzusehen, und müßten annehmen, daß bei der intraperitonealen Injektion der Reinkultur diese direkt in das mesenteriale Fettgewebe am Dickdarm gelangte. Die zur Entstehung der Tochterknoten führende Verschleppung der Zellen ist durch die Blutbahn erfolgt. Nicht festgestellt ist vorläufig, ob die Zellen die Lungenkapillaren passiert haben und erst in Kapillaren des großen Kreislaufes stecken blieben, oder zuerst kleine Metastasen in der Lunge bildeten und sekundär von diesen aus in den großen Kreislauf gelangten. Hierüber kann erst die exakte Durchforschung der Lunge Aufschluß geben, die noch aussteht. Von einem anderen Gesichtspunkte aus betrachtet, liefert aber dieser Fall eine mächtige Stütze für die Theorie, daß parasitäre Reize zur Entstehung maligner Tumoren beitragen können. Ich behaupte nicht, daß dieser einzelne Fall ein Beweis für die Infektionstheorie ist; die Beweise für letztere sind auf biologischem Gebiete zu suchen, worauf ich im dritten Teil meiner Ausführungen näher eingehen werde. Es wäre falsch, aus der Tatsache, daß in Geweben, in welchen irgendein lebender Fremdkörper abgelagert ist, oder sich weiterentwickelt, oder auf das Stoffwechselprodukte dieses fremden Organismus einwirken, ein maligner Tumor entsteht, schließen zu wollen, daß der Vorgang einer Infektion entspricht; es wäre das ebenso falsch, als die weitverbreitete Annahme, daß durch andere Reize chemischer oder mechanischer Natur, etwas anderes als lokal beschränkte Zellanhäufungen, daß ein echter maligner Tumor entstehen könne.

Jensen hat nach Injektion säurefester Stäbchen in zwei Fällen Sarkome bei Ratten auftreten sehen. Für einen Zusammenhang zwischen

den im Peritonealraum abgesetzten Stäbchen und der Entstehung der Sarkome spricht der Umstand, daß maligne Tumoren in inneren Organen von Ratten äußerst selten beobachtet worden sind, ein Zufall also mit Bestimmtheit auszuschließen ist. Derselbe Grund spricht mit derselben Eindringlichkeit dafür, daß auch in meinem Fall ein Zusammenhang zwischen der injizierten Kultur und der Neubildung besteht.

In den Jensenschen Fällen haben die säurefesten Stäbchen im ersten im Peritonealraum, im zweiten in der Lunge erst lokale für die Wirkung des spezifischen Erregers disponierende Zustände erzeugt. Der Erreger selbst gelangte später in den Körper der Tiere oder diese waren bei der Impfung bereits Träger desselben; Gelegenheit hierfür dürfte in dem Jensenschen Stalle, der viele Tumortiere beherbergt hat und zur Zeit der Impfung wohl noch beherbergte, in ausreichendem Maße vorhanden gewesen sein.

Für meinen Fall nehme ich an, daß eine angeborene oder erworbene Disposition bereits bestand, und daß ich durch Injektion der Mucor-Kultur den spezifischen Erreger in den Körper des Tieres einbrachte. Es wird mir obliegen, den Beweis hierfür zu erbringen.

Fall II. Im Oktober 1908 wurden 20 weiße Mäuse mit lebenden Kulturen meines Mucor, Stamm III, subkutan geimpft. Die Hälfte der Tiere ging im Laufe des Winters ein; unter den überlebenden fand sich im März 1909 ein weibliches Tier mit einer haselnußgroßen, weichen Geschwulst an der linken seitlichen Brustgegend. Mikroskopisch erwies sich dieselbe als ein Adenocarcinom der Mamma mit zahlreichen Uebergängen in ein Carcinoma solidum.

Der Tumor ergab bei der Transplantation eine ausgezeichnete Ausbeute. Schon in der ersten Generation waren sämtliche 20 Impfungen erfolgreich und auch später schwankten die Resultate meist zwischen 90 und 100 Proz. In der Struktur der Geschwulst traten bereits in der ersten Impfgeneration tiefgehende Veränderungen ein; die Hälfte aller Fälle zeigte makroskopisch und mikroskopisch das Bild eines Cystocarcinoma haemorrhagicum. In der vierten Generation waren alle Tumoren hämorrhagisch. Nichtsdestoweniger betrug die Impfausbeute durchschnittlich 90–100 Proz., ein Verhalten, das auch bei dem zuerst beschriebenen, ebenfalls stark hämorrhagischen Rattensarkom zu beobachten war. In diesen beiden wie auch in einem früheren Falle, bestätigte sich die Angabe von Ehrlich und Apolant nicht, die den hämorrhagischen Cystocarcinomen eine relative Benignität zuschreiben und angeben, daß Verimpfungen derselben ausnahmslos negativ verlaufen.

II. Immunisierungsversuche bei Tieren mit infiziertem Mucor.

Schon im Beginne unserer Untersuchungen wurden von meinem Mitarbeiter O. Profé einige einschlägige Versuche angestellt, die im ersten Hefte der „Mitteilungen aus Dr. Schmidts Laboratorium für Krebsforschung“ veröffentlicht sind. Ueberzeugende Resultate wurden damals nicht erzielt. In den folgenden Jahren stand uns kein Material zur Verfügung, bei dessen Benutzung zu Immunisierungsversuchen man durchaus einwandfreie Schlüsse hätte ziehen können. Die Mäusetumoren zeigten in den einzelnen Impfgenerationen zu starke Schwankungen, sowohl in der Zahl der positiven Fälle überhaupt, als auch in der Zeit, welche die implantierten Carcinomzellen brauchten, um im Wirtsorganismus manifest zu werden. Erst das Rattensarkom, von dessen

experimenteller Erzeugung ich im ersten Teile gesprochen habe, gewährleistet ein sicheres Arbeiten. Hier war es gelungen, in der achten Impfgeneration die Virulenz derart zu steigern, daß die Ausbeute in dieser und den nächsten Generationen 100 Proz. betrug oder diesen Prozentsatz doch beinahe immer erreichte. Das Wachstum der Tumoren war ein sehr rasches; bei den Kontrolltieren trat der Exitus, nachdem die Geschwülste sehr bedeutende Dimensionen erreicht hatten, durchschnittlich in der 5.—6. Woche ein. Eine spontane Rückbildung war bei dieser hohen Virulenz nicht zu befürchten und wurde auch tatsächlich bei keinem der Kontrolltiere beobachtet.

Die Gesamtzahl der behandelten Tiere der ersten Serie betrug 29; die Größe der Tumoren zu Beginn der Behandlung schwankte von Kirsch kern- bis Hühnereigröße, erreichte aber im Durchschnitte die Dimensionen einer Haselnuß bis Kastanie. Die Injektionen wurden in 20 Fällen subkutan, und zwar, da die Tumoren meistens auf dem Rücken saßen, an der Bauchseite ausgeführt; bei 6 Tieren wurde als Regel ebenfalls subkutan injiziert, doch erfolgten bei ihnen in der zweiten Hälfte der Behandlung auch einige Einspritzungen direkt in die Geschwulst. Bei 3 Tieren endlich geschah von vornherein die Applikation intratumoral. Bei sämtlichen Tieren wurde vor und 4—6 Stunden nach den Injektionen die Temperatur gemessen, um die Stärke der allgemeinen Reaktion festzustellen; dabei konnte im Beginn der Behandlung bei der Hälfte ein Ansteigen der Temperatur um 1,5—2,5° beobachtet werden. In etwa dem gleichen Prozentsatz — es kommen hier nur die subkutan gespritzten Tiere in Betracht — ließ sich eine Reaktion in den Tumoren, bestehend in Röte und Schwellung, konstatieren.

Die Dauer der Behandlung, durchgeführt bis zur Heilung oder bis zum Tode des Tieres, schwankte von wenigen Tagen bis zu 6 Wochen; die Größe der injizierten Dosen Reinkultur des infizierten *Mucor* von 0,01—3 mg. Entsprechend der Dauer der Behandlung, war die Anzahl der Injektionen verschieden groß; im allgemeinen wurde mit kleinen Mengen begonnen und langsam gestiegen. Trotzdem hatten wir im Beginn der Versuche eine größere Zahl Todesfälle an Intoxikation zu verzeichnen.

Gesunde Ratten vertragen von den abgetöteten Reinkulturen des *Mucor* ganz ungeheure Mengen ohne zu erkranken; so wurden in Kontrollversuchen 100 mg ohne Schaden intraperitoneal injiziert. Demgegenüber hatten wir bei den sarkomkranken Tieren schon bei einer subkutanen Gabe von 0,3 mg Verluste zu beklagen. Äußerst empfindlich sind die Tiere gegen direkte Injektionen in die Geschwulst; so starben 3, die gleichzeitig 0,1 mg intratumoral als erste Dosis erhielten, im Verlaufe weniger Stunden. Häufiger sind chronische Intoxikationen; hier gehen dem Ende Lähmungen der hinteren Extremitäten mehrere Tage voraus. Erwähnenswert dürfte noch sein, daß bei stark hämorrhagischen Tumoren, sowohl nach subkutanen als auch intratumoralen Injektionen, einige Male eine mehrere Tage andauernde Ausscheidung von Blutfarbstoff im Urin beobachtet werden konnte.

[A. Intratumoral behandelte Fälle.

R. 308. Tumor bei Beginn der Behandlung über haselnußgroß. Dauer der Behandlung 20 Tage. Anzahl der Injektionen 12; Dosis ansteigend von 0,02 auf 1 mg. Verkäsung der Geschwulst. Heilung. Rezidivfrei noch nach 5 Monaten.

R. 312. Tumor hat die Größe eines Hühnereies. Behandlungsdauer 11 Tage. Zahl der Injektionen 3. Nach der zweiten starke, allgemeine und lokale Reaktion. Temperatursteigerung um 2,2°. Tod an eitriger Peritonitis.

R. 325. Größe des Tumors = 36:22:16 mm. Behandlungsdauer 30 Tage. Anzahl der Injektionen 6. Tumor durchbricht nach 14 Tagen die Haut. Tod an Verjauchung der Geschwulst.

B. Subkutan behandelte Fälle.

R. 301. Fast hühnereigroßer Tumor. Behandlungsdauer 7 Tage mit 4 Injektionen. Tod durch Intoxikation, nachdem 2 Tage Lähmung der hinteren Extremitäten vorausgegangen war.

R. 302. Kastaniengroßer Tumor. Am 4. Tage, nach 3 Injektionen mit sehr starken Reaktionen, ist die Geschwulst nur noch erbsengroß; am 8. Tage ist sie vollständig verschwunden. Nach 5 Tagen stechnadelkopfgroßes, lokales Rezidiv, das trotz Behandlung in 25 Tagen die Größe einer Haselnuß erreicht. In den letzten Tagen Lähmung. Tod durch Intoxikation. Letale Dosis 2,5 mg.

R. 303. Zwei Tumoren oberhalb der Schwanzwurzel 20:20:12 und 13:12:8 groß. Behandlungsdauer 38 Tage. Geschwulst nach 2½ Wochen an Größe um ein Drittel zugenommen; von da ab Stillstand und später Rückbildung. Tod an Intoxikation nach Lähmung.

R. 304. Größe der Geschwulst 40:40:24 mm. 12-tägige Behandlung bei 6 Injektionen. Tod an Karbolvergiftung.

R. 305. Geschwulstgröße 30:28:12 mm. Tod nach 12-tägiger Behandlung an eitriger Pleuritis. Geschwulst auf 15:12:8 mm zurückgegangen; Rest verkäst.

R. 306. Haselnußgroßer Tumor. Tier stirbt nach 5 Tagen infolge eines Abszesses am Unterkiefer.

R. 311. Größe der Geschwulst 18:14:12 mm. Behandlungsdauer 12 Tage, Zahl der Injektionen 11. Anfangsdosis 0,02; Enddosis 0,5 mg Reinkultur. Wiederholt sehr starke, lokale und Allgemeinreaktion mit Temperatursteigerungen um 3°. Heilung; nach 4 Monaten rezidivfrei.

R. 314. Größe des Tumors im Beginn der Behandlung 10:10:10 mm, nach 2 Wochen 32:26:20. Dauer der Behandlung 49 Tage. Zahl der Injektionen 21. Anfangsdosis 0,05; Enddosis 0,6 mg Reinkultur. Wiederholt sehr starke Reaktionen. Heilung. Rezidivfrei nach 4 Monaten.

R. 315. Größe der Geschwulst 24:17:9. Behandlungsdauer 14 Tage. Zahl der Injektionen 6. Kleinste Dosis 0,05; größte 0,25 mg Reinkultur. Heilung. Nach 4 Monaten ohne Rezidiv.

R. 316, 317 und 318. Geschwulstgröße 40:22:12; 40:40:25; 36:20:20. Dauer der Behandlung 11 Tage. Kleinste Einzeldosis 0,05; größte 1,0 mg Reinkultur. Kombiniert mit den Kulturen wurden in diesen 3 Fällen jedesmal 0,5—1,0 ccm eines Serums gegeben, welches von einem längere Zeit mit Tumormasse immunisierten Kaninchen gewonnen war. Die 3 Ratten starben sämtlich innerhalb einer Stunde an Anaphylaxie, nachdem ihnen am 11. Tage eine Reinkulturinjektion gemacht worden war. Die letzte Seruminjektion (1,0) war 3 Tage vorher gegeben worden, ohne krankhafte Erscheinungen auszulösen. Im Wachstum der Tumoren konnte bis dahin noch kein nennenswerter Rückgang beobachtet werden.

R. 326. Tumor haselnußgroß. Tod nach der zweiten Injektion aus unbekannter Ursache.

R. 326a. Größe der Geschwulst 46:21:20 mm. Behandlungsdauer 20 Tage. Zahl der Injektionen 18. Kleinste Einzeldosis 0,03; größte 1,0 mg Reinkultur. Trotz mehrfach auftretender Reaktionen wird das Wachstum der Geschwulst nicht aufgehalten. Die Größe des Tumors beträgt zum Schluß 53:49:32 mm. Tod an Erschöpfung.

R. 327. Größe der Geschwulst 25:20:15 mm. Behandlungsdauer 2½ Monate. Anzahl der Injektionen 26. Kleinste Einzeldosis 0,03; größte 1,0 mg Reinkultur. Tier leidet von Anfang an an Atemnot und zeigte subnormale Temperaturen (34,3°). Tod. Sektion zeigt beide Lungen in großem Umfange vereitert. Der Tumor war während der Behandlung auf die Dimensionen 14:8:6 mm zurückgegangen.

R. 328. Größe der Geschwulst 25:20:9 mm. Dauer der Behandlung 12 Tage. Zahl der Injektionen 9. Kleinste Einzeldosis 0,15; größte 0,5 mg Reinkultur. Sämtliche Injektionen intraperitoneal. Reaktionen stark, bis 2,8° Anstieg nach der Injektion. Heilung. Nach einem Monat lokales Rezidiv, das in 8 Tagen Mandelgröße erreicht. Heilung durch 4 intraperitoneale Injektionen in 14 Tagen.

R. 329. Tumor 12:9:6 mm groß. Behandlungsdauer 2 Monate. Zahl der Injektionen 20. Das Wachstum der Geschwulst kam schon nach 8 Tagen zum Stillstand und trat bis zum Tode des Tieres keine Aenderung im Befund auf. Tier hatte andauernd subnormale Temperaturen und ergab die Sektion käsige und eiterige Prozesse beider Lungen.

C. Kombinierte subkutane und intratumorale Injektionen.

R. 309. Größe der Geschwulst 37:26:16 mm. Dauer der Behandlung 42 Tage. Zahl der Injektionen 23, darunter 7 in den Tumor. Kleinste Dosis 0,02; größte 1,0 mg Reinkultur.

Der völlig erweichte Tumor bricht nach 4-wöchiger Behandlung auf und entleert käsige Massen; der Austritt wird durch leichten Druck unterstützt. 2 Wochen nach dem Aufbruch ist völliger Schwund der Geschwulst und Vernarbung zu konstatieren. Heilung. Nach 4 Monaten rezidivfrei.

R. 310. Tumor etwas über haselnußgroß. Dauer der Behandlung 4 Wochen. Anzahl der Injektionen 19, davon 8 in den Tumor. Kein Stillstand im Wachstum; Geschwulst nach 10 Tagen bereits hühnereigroß. Aufbruch; Verjauchung; Tod.

R. 319. 2 Tumoren, 47:37:16 und 29:27:16 mm groß. Behandlungsdauer 7 Tage. Die während dieser Zeit teils subkutan, teils intratumoral angewandten Injektionen lösen starke Reaktionen aus. Tod an käsiger Pneumonie.

R. 320. 3 Tumoren nebeneinanderliegend; Gesamtgröße 65:22:15 mm. Behandlungsdauer 36 Tage. Anzahl der Injektionen 14, davon 5 in den größten Tumor. Die Geschwülste sind nach 14 Tagen bis zur Größe einer Walnuß zurückgegangen. Die 2 kleineren Tumoren sind zu dieser Zeit bereits verschwunden. Am Ende der 4. Woche wird die noch vorhandene Geschwulst, die ganz weich ist, inzidiert und die käsigen Massen ausgedrückt. Heilung in wenigen Tagen vollendet. Nach 3 Monaten rezidivfrei.

R. 321. Tumor 38:36:20 mm groß. Behandlungsdauer 14 Tage. 8 Injektionen, davon 3 in den Tumor. Lebhaftes lokale Reaktion. Wachstumsstillstand seit der ersten Injektion. Tod an Intoxikation.

R. 222. Geschwulstgröße 17:12:10 mm. Behandlungsdauer 30 Tage. 12 Injektionen, zum Teil intraperitoneal, zum Teil intratumoral. Ge-

schwulst wächst anhaltend und hat zum Schlusse die Größe eines Hühner-eies erreicht. Von der 3. Woche an fällt nach den Injektionen die Temperatur durchschnittlich um 2—2,5°. Niedrigste Temperatur 34,9°. Tod an Erschöpfung. Tumor ist zu $\frac{4}{5}$ verkäst.

R. 324. Tumor 43:19:10 mm groß. Dauer der Behandlung 12 Tage. 3 Injektionen, davon eine in den Tumor. Nach den beiden ersten Injektionen tritt eine Temperaturerhöhung um 2—2,5° ein. Nach der dritten (intratumoral) am 12. Behandlungstage ein Temperaturabfall von 38,4 auf 34,3°. Konvulsionen. Tod an Anaphylaxie.

Ueberblickt man die durch die Immunisierung erzielten Resultate, so wird zuerst die große Zahl von Todesfällen während der Behandlung und noch mehr die Tatsache auffallen, daß ein Drittel der Tiere durch die Injektionen selbst zugrunde gegangen ist.

Es waren vor Beginn der Versuche zwar eine größere Anzahl Ratten und Mäuse auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen die Toxine der in Frage stehenden Reinkulturen geprüft worden, doch waren dies gesunde Tiere. Von ihnen wurden selbst Dosen von 0,1 g, intraperitoneal injiziert, ohne größere Beeinflussung des Gesundheitszustandes vertragen. Die sarkomkranken Tiere ergaben aber, was wir zu unserem Leidwesen erst während der Versuche erkannten, ganz andere Werte, sie starben teilweise schon nach der Injektion von 0,001 g Reinkultur.

Die akute Form der Intoxikation, bei der die Tiere in den ersten Stunden nach der Injektion starben, wurde bis jetzt nur bei direkter Einspritzung in den Tumor beobachtet. Außer Fall 321 zählen dazu noch 5 Fälle, welche in die Tabelle nicht aufgenommen sind, weil der Tod schon nach der ersten Einspritzung erfolgte. Es handelte sich immer um sehr große Tumoren. Die Erscheinungen der Vergiftung waren wenig prägnant. Sofort nach der Einverleibung der Kultur wurden die Tiere unruhig und versuchten aus dem Käfige zu entkommen. Kurze Zeit später saßen sie in einer Ecke und kratzten sich lebhaft; es wurde zweifellos ein heftiger Juckreiz empfunden. Dann wurden sie still und starben, ohne ihren Platz noch einmal verlassen zu haben. Obduktionsbefund negativ. Leichte Konvulsionen zeigten 3 von den 5 Tieren.

Bei der chronischen Intoxikation (Ratte 301, 302, 303 und 307) schleiften die Tiere bereits mehrere Tage vor dem Exitus die hinteren Extremitäten nach; sonst trat auch hier der Tod ruhig, vor allem ohne Krämpfe, ein. Während aber bei der akuten Form, entsprechend der nach der Injektion auftretenden Reaktion, die Temperatur um 2—3° in die Höhe ging, war sie bei der chronischen Form in den letzten Tagen vor dem Tode herabgesetzt. Die Obduktion ergab in allen Fällen Hyperämie der Lungen, der Pleura und des Peritoneums und vergrößerte, stark marmorierte Leber. Auffallend war eine bei allen gleichmäßig auftretende starke Verfärbung der Bauchserosa durch Gallenfarbstoffe.

4 Tiere, Ratte 316—318 und 324, gingen unter den Symptomen der Anaphylaxie, die 3 ersten am 11., das letzte am 12. Behandlungstage, zugrunde. Ratte 324 mit hühnereigroßem Tumor hatte am 1. und 4. Behandlungstage eine subkutane Injektion der Kultur erhalten, worauf die Temperatur um 2 resp. 2,5° stieg. Da nach der zweiten Injektion andauernd etwas Fieber bestand, wurde die Behandlung bis zum 12. Tage ausgesetzt, dann aber trotz noch bestehendem Fieber von 38,4° eine Injektion von 1,0 mg in den Tumor gemacht. Bald darauf lebhaft Konvulsionen, Abfall der Kurve auf 34,3° und Tod nach wenigen Stunden.

Daß bei Ratte 316—318 die anaphylaktischen Erscheinungen durch die Reinkultur ausgelöst worden sind, und man sie nicht auf das gleichzeitig damit injizierte Immunserum zurückführen kann, dürfte keinem Zweifel unterliegen. Denn der Tod erfolgte unter Konvulsionen eine Stunde nach der Injektion von 1,0 mg der Reinkultur in die Geschwulst, am 11. Behandlungstage. Serum war an diesem Tage nicht injiziert worden; die letzte Injektion desselben war 3 Tage vorher erfolgt.

In mehreren geheilten Fällen trat eine Rückbildung der Geschwulst schon nach den ersten Injektionen ein und war nach 14 Tagen beendet; in anderen waren die kleinen Anfangsdosen ohne Wirkung. So nahm z. B. bei R. 314 die Geschwulst innerhalb 2 Wochen um das Dreifache zu, um dann erst zum Stillstand und zur Rückbildung zu kommen. Diese Beobachtung macht es nötig, bei der Bewertung des Gesamtergebnisses alle Fälle abzusetzen, welche in den ersten zwei Wochen eingegangen sind; das sind im ganzen 11. Es bleiben also zur Verrechnung 18 übrig. Von diesen sind geheilt und länger als 3 Monate rezidivfrei geblieben 7; geheilt nach Ueberstehen eines lokalen Rezidives einer: Gesamtzahl der Heilungen 8 Fälle. Anfangs geheilt, später aber an lokalem Rezidiv eingegangen: 1 Fall. Bedeutende Rückbildung der Tumoren, aber vor vollständiger Ausheilung aus einer nicht mit der Tumorbildung zusammenhängenden Ursache eingegangen: 3 Fälle. Infolge des Sarkoms gestorben: 6 Fälle.

Ich habe einleitend schon erwähnt, daß sämtliche Kontrolltiere an ihren Tumoren zugrunde gingen, und daß bei keinem eine Rückbildung der Geschwulst oder gar spontane Heilung zu beobachten war. Es dürfte nötig sein, dies nochmals besonders hervorzuheben, um dem eventuellen Einwande zu begegnen, daß, nach Analogie anderer Beobachtungen, eine Spontanheilung stattgefunden habe.

Die beiden lokalen Rezidive, welche nach Aussetzen der Injektionen, das eine sofort, das andere nach einem Monat, auftraten, sprechen ebenfalls für einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Einverleibung der Kultur und Rückgang der Geschwülste. In mehreren weiteren Fällen dieser und einer zweiten, noch in Behandlung befindlichen Serie konnten wir ferner die Beobachtung machen, daß die Tumoren sich zurückbildeten, solange injiziert wurde, daß sie aber wieder zu wachsen anfangen, sobald die Injektionen längere Zeit ausgesetzt wurden. Diese Tatsachen wären nicht verständlich, wenn man zu ihrer Erklärung eine innere, im kranken Tiere liegende Ursache heranzöge, denn diese bliebe ja bestehen und müßte, wenn sie die Geschwulst zum Schwinden zu bringen vermöchte, um so leichter das Wiederauftreten von Rezidiven verhindern.

Das experimentelle Arbeiten mit Tiergeschwülsten und therapeutische Versuche beim Menschen haben einige Stoffe (Fermente, fremdartiges Blut etc.) kennen gelehrt, die, in die Geschwulst injiziert, also bei direktem Kontakt mit den malignen Zellen, diese zerstören. Die Grenze der Zerstörung wird im Tumor da liegen, bis wohin die injizierten Stoffe vorgedrungen sind; ihre Wirkung ist der von Aetzmitteln gleichzustellen und reicht nur deshalb weiter, weil die der ersteren durch die von ihnen hervorgerufene Eiweißgerinnung eingeschränkt wird. Der vorurteilslosen Beurteilung dürfte es schwer fallen, in allen diesen Experimenten Beiträge zur Lösung des Problems der Heilung maligner Tumoren zu finden; derartige Stoffe können niemals elektiv, spezifisch wirken; sie werden die gesunde mit der kranken Zelle zerstören. Berücksichtigt

man einerseits, wie weit die Krebszelle infolge ihrer amöboiden Beweglichkeit in das gesunde Gewebe vordringen kann und andererseits, daß eine einzige, der Zerstörung entronnene Zelle den Heileffekt vereitelt, so wird man auf diese lokal applizierten, zellvernichtenden Stoffe keine weiteren Hoffnungen setzen.

Immerhin haben diese Verfahren einzelne wichtige Tatsachen ergeben, so diejenige, daß die Sarkomzelle gegen lokale Schädigungen weniger widerstandsfähig ist, als die Carcinomzelle. Ich lege deshalb auch auf die bei meinen Tierexperimenten durch Injektionen in den Tumor hervorgerufene, zur völligen, restlosen Zerstörung desselben führende Degeneration kein besonders großes Gewicht. Nur will ich hier schon feststellen, daß die Wirkung nicht ätzend oder fermentativ war, sondern daß es sich um lokale Gewebsimmunisation handelte.

Ganz anders sind die 5 Heilungen zu bewerten, welche nach subkutaner Injektion der Reinkultur erfolgten. Eine direkte Kontaktwirkung ist ausgeschlossen, weil die Einspritzungen entfernt von der Geschwulst, teitweise intraperitoneal gemacht wurden. Einige Zeit nach der Einverleibung der Kultur, in der Regel nach 5 bis 6 Stunden, ließ sich beim größten Teile der behandelten Tiere eine lebhaftere allgemeine Reaktion nachweisen; Temperatursteigerungen um 2—3 Grad wurden häufig beobachtet. Viel mehr Gewicht aber scheint mir auf die lokal, in der Geschwulst, auftretende Reaktion gelegt werden zu müssen. Wenn einige Zeit nach der Injektion von abgetöteten Reinkulturen eines Mikroorganismus bei Mensch oder Tier im Krankheitsherde eine Schwellung und lebhafte Rötung auftritt, wenn sich dieser Vorgang bei demselben Tier und bei zahlreichen anderen nach einer gleichen Injektion wiederholt, so müssen irgendwelche Beziehungen zwischen der Erkrankung und dem zur Verwendung kommenden Mikroorganismus bestehen. Und wenn bei Ratten Geschwülste von Walnußgröße und mehr, in denen diese lokalen Reaktionen im Anschluß an die Injektionen aufgetreten sind, in 12—14 Tagen spurlos verschwinden, während bei den Kontrolltieren die Tumoren in derselben Zeit um das Doppelte sich vergrößern und zum Tode führen, so ist nur der Schluß erlaubt, daß eben diese Reinkulturen die Heilung herbeigeführt haben.

Bei der Berechnung des Resultates müssen von der Gesamtsumme der behandelten 29 Fälle 11 in Abrechnung gebracht werden, welche eingingen, bevor die Wirkung manifest werden konnte. Von den übrigen 18 Tieren starben 6 an der Grundkrankheit, dem Sarkom; weitere 3 geheilte Fälle scheiden aus, weil die Injektionen entweder ganz oder zum Teil in den Tumor gemacht worden waren; 2 mit bedeutendem Rückgang der Neubildung aus demselben Grunde. Es verbleiben demnach 5 oder 28 Proz. volle Heilungen und 2 oder 11 Proz. Rückbildungen vor Eintritt des Todes.

III. Spezifität des Erregers.

C. Lewin hat in seinem bereits zitierten Buche von nicht spezifischen Parasiten als Ursache maligner Neubildungen gesprochen und ihnen „spezifische Erreger maligner Tumoren“ gegenüberstellt. Auch in seinem Vortrage „Experimentelle Krebsforschung und Infektionstheorie“ definiert er die Wirkung der Parasiten als elektiven Reiz toxischer Substanzen, der die Zellproliferation hervorruft. Zum Schluß der Diskussion über diesen Vortrag erklärt er ausdrücklich, daß er an die

Existenz spezifischer Parasiten nicht glaube. Dietrich weist mit Recht in derselben Diskussion darauf hin, daß dann die fraglichen Mikroorganismen die gleiche Rolle spielen, wie die anderen Schädlichkeiten, in deren Gefolge Carcinom vorkommt, z. B. Teer, Paraffindämpfe, Trauma etc., denen man ungezwungen noch die Röntgenstrahlen einrechnen kann.

Die parasitäre Theorie der Entstehung maligner Tumoren ist eine echte Infektionstheorie. Sämtliche oben angeführte Schädlichkeiten, zu welchen man auch gelegentlich in malignen Tumoren vorkommende Helminthen (Borrel) oder Cestoden (Bashford), ferner die Erreger der Syphilis und der Tuberkulose zählen kann, können wohl Hyperplasieen, größere Zellanhäufungen, die gelegentlich auch einmal atypisch angeordnet sind, hervorbringen. Das sind aber noch keine malignen Tumoren. Soll ein solcher Haufen von Zellen, oder besser gesagt, soll eine oder mehrere Zellen von allen diesen, die auch biologisch vielleicht verändert sind, ihre Entwicklung zur malignen Geschwulst nehmen, so muß eine Infektion dazutreten. Die Anhäufung biologisch möglicherweise bereits etwas aus ihrem Gleichgewicht gebrachter Zellen ist nur eine Gelegenheitsursache, sie trägt nichts vom Charakter echter Ursachen an sich, aber sie ist praktisch wichtig. Vom allgemein naturwissenschaftlichem Standpunkte betrachtet, repräsentiert sie die äußeren Bedingungen, die für den Ausbruch der Erkrankung eine ganz bestimmte, hier begünstigende, Anfangslage schaffen. Demgegenüber würden wir immunisierenden Vorgängen, die auch zu den äußeren Bedingungen gerechnet werden müssen, den Charakter beilegen, daß sie Hemmungen in die Anfangslage hineinbringen. Wie Hüppe (8) ausführt, sind es diese „äußeren Bedingungen“, welche darüber entscheiden, ob eine gegebene potentielle Energie gar nicht, ob sie leicht oder schwer in kinetische Energie übergehen kann. Als potentielle Energie als Arbeitsmöglichkeit der Körperzelle, dürfte an erster Stelle die Möglichkeit, Nährstoffe in sich aufzunehmen und sich infolgedessen zu vergrößern und zu teilen in Betracht kommen. Diese Qualitäten besaß die selbständige Zelle, das Protozoon zuerst; bei den Metazoen traten, bedingt durch die Arbeitsteilung, Regulierungen ein, welche als Hemmungen zu betrachten sind. Der Uebergang der potentiellen Energie der Zelle, der Teilungsmöglichkeit, in die kinetische Energie, die Teilung, erfolgt nur durch einen auslösenden Anstoß, der die Hemmungen beseitigt. Diese Auslösung der Energie der Zelle kann zweifelohne durch Einwirkung der verschiedensten Reize erklärt werden; da aber die zugeführte Energie bei der Ueberwindung der Hemmung verbraucht wird, kommen zur Erklärung der Malignität nur Reize in Betracht, die dauernd sich erneuern. Denn nur wenn die Zellen eines Gebildes dauernd und schrankenlos wuchern, wenn, wie von Dungern und Werner (9) sagen, ein dauernd beschleunigtes Wachstum der Geschwulst vorliegt, kann von Malignität gesprochen werden. Die Reizwirkung muß ferner eine gleichmäßige sein und unterhalb der Reizschwelle bleiben; jede Ueberschreitung eines bestimmten Indifferenzpunktes würde das Zellprotoplasma töten oder lähmen. Diese Bedingungen erfüllt nur ein Parasit, und zwar ein spezifisch wirkender Parasit.

Es ist in den letzten Jahren fast zur Gewohnheit geworden, von der parasitären Theorie des Carcinoms als von einem überwundenen Standpunkt zu sprechen. Insbesondere wiederholt sich immer von neuem die merkwürdige Behauptung, daß die Beobachtungen, welche man bei

der Transplantation der Tiergeschwülste gemacht habe, mit der Infektionstheorie nicht vereinbar seien. Mir will es scheinen, daß alle hierbei beobachteten Tatsachen durch die Infektionstheorie nicht nur vollständig, sondern auch am besten und ungezwungendsten, daß aber einzelne der beobachteten Tatsachen nur durch sie einwandfrei zu erklären sind. Ich brauche hier nur an die Entwicklung von Sarkom im Gewebe des Tieres zu erinnern, auf welches Carcinom eines anderen überpflanzt wurde. Selbst ein so entschiedener Gegner der parasitären Theorie wie Lubarsch erklärt unumwunden, daß man hierbei an einen besonderen, eventuell belebten Stoff der benachbarten Zellen — Epidermisepithel und Bindegewebe — denken müsse, der zu gleichartiger destruierender Wucherung anrege.

Die bei den Transplantationen von Tiertumoren gemachten Erfahrungen haben dahin geführt, daß man sich dem Gedanken, daß Parasiten bei der Entstehung von Tumoren eine Rolle spielen, wieder mehr zuwandte. Die zufälligen Befunde von Nematoden und Cestoden in malignen Geschwülsten veranlaßten manche Forscher, sie für die Entstehung derselben im Einzelfalle verantwortlich zu machen und auch die Möglichkeit zuzugeben, daß in anderen Fällen noch unbekannte Erreger eine ursächliche Rolle spielen. Aengstlich negiert man aber die Existenz eines spezifischen Erregers. So ordnet C. Lewin auch meine Fälle von künstlich bei Tieren durch Inkorporierung eines Parasiten erzeugten malignen Tumoren, die er nicht leugnet, dieser Irritationstheorie ein. Und doch ist der Vorgang, der zur Entstehung meiner Tumoren führte, eine echte Infektion, die Erreger sind spezifisch.

„Eine Nachprüfung der O. Schmidtschen Arbeiten ist, was die Spezifität betrifft, stets negativ ausgefallen.“ So die Behauptung C. Lewins in seinem Artikel „Experimentelle Krebsforschung und Infektionstheorie.“ Nachprüfungen meiner Arbeiten sind bis jetzt nur in der chirurgischen Klinik in Heidelberg unter Czernys Leitung vorgenommen worden, wenigstens weist die Literatur keine weiteren Veröffentlichungen auf. Berichte über die in Heidelberg erzielten Resultate sind von mir (10) und später von Baisch erschienen; in bezug auf meinen Bericht betone ich ausdrücklich, daß der Wortlaut der darin enthaltenen kurzen Krankengeschichten von Baisch und mir gemeinsam nach den vorliegenden Krankenprotokollen entworfen worden ist. Die Versuche, durch Injektion der Reinkulturen meines Parasiten bei Kranken mit klinisch festgestellten malignen Tumoren Reaktionen zu erzielen, umfaßten im ganzen 21 Fälle; davon waren mehrere bereits kachektisch, einige weitere aus anderen Gründen recht ungeeignet. Ich will auf diesen Punkt hier nicht eingehen, da die zu ziehenden Schlüsse durch die Zahl der reagierenden oder nicht reagierenden Fälle nicht wesentlich beeinflußt werden. Nach Baisch beantworteten 6 von den 21 die Injektion mit deutlicher allgemeiner und lokaler Reaktion und außerdem beobachtete er bei einer großen Anzahl (Baisch sagt „öfters“) ziehende Schmerzen im Tumor, die immer bald nach der Injektion aufgetreten sein sollen.

Positiv waren also 6 Fälle.

Negativ waren: 1) zwei Fälle, bei denen die klinische Diagnose auf Malignität gestellt war, die Operation aber gutartige Tumoren ergab; 2) 13 Fälle maligner Tumoren; 3) Autoversuche und andere Versuche an vollkommen gesunden Menschen; 4) alle Kontrollversuche an

Patienten mit chronischen Eiterungen (Tuberkulose, chronische Osteomyelitis).

Wenn man die 6 positiven Fälle der Ueberlegung zugrunde legt, ob man auf diese Erfahrung ein System der Diagnostik in zweifelhaften Fällen aufbauen soll, so bedeuten sie wenig, zu wenig; wenn man sie aber verwertet, um in das Wesen der malignen Tumoren einzudringen, so bedeuten sie viel, sehr viel.

Wir haben, wenn wir die Resultate der Heidelberger chirurgischen Klinik betrachten, bei malignen Tumoren ein Drittel (6 von 19) positive Resultate, alle Kontrollversuche sind dagegen negativ.

Baisch beurteilt das Ergebnis, wie folgt:

„Die von ihm (Schmidt) angegebenen, anscheinend sehr günstigen Resultate bestätigten sich weiterhin nicht vollauf“ — und später: „Obwohl somit Reaktion nur bei Carcinomkranken aufgetreten war, so ist diese doch noch nicht mit Sicherheit als eine spezifische anzuerkennen, da sie nur bei Patienten mit ulcerierten Tumoren beobachtet werden konnte und da erst der Nachweis gebracht werden müßte, daß bei diesen auf Injektionen von reinem Mucor, der nicht aus Tumoren gezüchtet ist, keine Reaktion auftritt.“

Was den zweiten Einwand anbetrifft, so ist derselbe bei der Frage nach der Spezifizität auszuschalten; er hat nur eine Berechtigung, wenn die Fragestellung lautet: Ist die Annahme Schmidts richtig, daß in seinem, aus malignen Tumoren gezüchteten Mucor ein Parasit existiert, der diese Reaktion verursacht, oder ist es der Mucor selbst? Für die Beantwortung der Frage, ob der Mikroorganismus, den ich aus menschlichen Carcinomen züchtete, mit dessen Kulturen ich dann in 10 Fällen maligne Tumoren bei Tieren erzielte und mit dessen abgetöteten Reinkulturen bei Carcinomkranken in einem Drittel aller Fälle Reaktionen erzielt wurden, während sie in allen Kontrollfällen ausblieben, der spezifische Erreger ist, kommt der Einwand nicht in Betracht.

Der erste Einwand, daß man, da die Reaktion nur bei ulcerierten Tumoren beobachtet worden sei, den Verdacht hegen müsse, es könne sich um Toxinwirkungen, namentlich Bakteriotoxine, handeln, ist bereits von Baisch selbst widerlegt worden: „Deswegen an einigen fieberlosen Patienten mit chronischen Eiterungen angestellte Kontrollversuche ergaben weder Fiebersteigerung noch lokale Reaktion an den Wunden.“

Uebrigens steht die Erfahrung Baischs, daß eine Reaktion nur in ulcerierten Geschwülsten beobachtet wurde, in auffallendem Gegensatz zu meinen eigenen und den Erfahrungen vieler anderer Aerzte, welche die Kulturen zu diagnostischen und therapeutischen Zwecken verwandt haben. Ich selbst konnte, was ich auch in Heidelberg betonte und worüber ich an anderem Orte (11) berichtet habe, fast immer das Gegenteil beobachten. Eine Erklärung für diesen Gegensatz dürfte teilweise in der geringen Zahl der in Heidelberg untersuchten Fälle, teilweise darin zu suchen sein, daß aus dieser geringen Zahl nur sehr wenige überhaupt geschlossene Tumoren hatten.

Ueber das Zustandekommen der spezifischen Reaktionen gab R. Koch seinerzeit für das Tuberkulin an, daß bei Tuberkulösen ganz geringe Mengen einer im Präparat enthaltenen nekrotisierenden Substanz, die in großen Mengen auch Gesunde schädigt, genügen, um an bestimmten Stellen, nämlich da, wo Tuberkelbacillen vegetieren und bereits ihre

Umgebung mit denselben nekrotisierenden Stoffen imprägniert haben, mehr oder weniger ausgedehnte Nekrosen von Zellen nebst den damit verbundenen Folgeerscheinungen für den Gesamtorganismus zu veranlassen.

Durch die Ophthalmoreaktion ist dann der Beweis erbracht worden, daß auch gesundes Gewebe Tuberkulin überempfindlich wird, wenn der Organismus vorher auf irgendeine Weise die tuberkulöse spezifische Substanz resorbiert hat. Damit sind alle Theorien gefallen, welche den tuberkulösen Herd als Ausgangspunkt der Tuberkulinreaktion annehmen.

v. Pirquet und Schick (12) zogen aus der Analogie der Tuberkulinreaktion mit der Reaktion bei der Serumkrankheit den Schluß, daß alle derartigen Reaktionen auf dem Vorhandensein von Antikörpern beruhen, welche in Verbindung mit dem neueingeführten Gift entzündliche Erscheinungen geben. Es handelt sich bei der Tuberkulin- und allen ähnlichen Reaktionen demnach um eine veränderte Reaktionsfähigkeit des schon einmal infiziert gewesenen Organismus, kurz um jenes Phänomen, das wir als „spezifische Ueberempfindlichkeit“ bezeichnen.

Die Bakterienanaphylaxie ist hochspezifisch. So reagieren mit Typhusbacillen (Kraus und Dörr [13]) vorbehandelte Meerschweinchen nur auf die Reinjektion von Typhusextrakt; Choleraextrakte, ja nicht einmal Paratyphusextrakte vermögen einen anaphylaktischen Shock auszulösen.

6 Fälle von den in der Heidelberger chirurgischen Klinik mit meinen Reinkulturen injizierten 19 Carcinomkranken zeigten die Erscheinungen dieser hochspezifischen Anaphylaxie; da diese Erscheinung nur dann eintritt, wenn Antigen und antikörperhaltige Produkte im Organismus zusammentreffen, müssen im Serum der injizierten Kranken Antikörper gegen die Antigene meiner Reinkulturen vorhanden gewesen sein. Da aber Antikörper nur da vorhanden sein können, wo die entsprechenden Antigene vorher künstlich zugeführt wurden oder auf dem Wege einer natürlichen Infektion in den Körper gelangten, der erstere Modus aber auszuschließen ist, bleibt nur übrig, das Carcinom in diesen Fällen als eine Infektionskrankheit und den Mucor als Erreger zu betrachten.

Weitere Beweise für die Spezifität des Erregers erbrachten die Tierversuche, von welchen ich eine Serie oben näher besprochen habe. Ich erwähnte dort schon, daß wir starke Verluste an Tumortieren durch Intoxikation zu beklagen hatten. Bei ihnen trat der Exitus bereits nach Dosen ein, die nur ein Zehntel oder noch weniger der für gesunde Tiere ausprobierten Dosis letalis minima ausmachten. Durchschnittlich erfolgte das Ende wenige Stunden nach der ersten Injektion bei rapidem Abfall der Temperatur. Subkutane und intraperitoneale Injektionen erzielten diesen Ausgang bei einem Zehntel bis einem Fünfzehntel der für gesunde Tiere letalen Dose; Injektion in die Geschwulst tötete in einigen Fällen schon bei Verwendung des hundertsten Teiles. Wir sehen hier dieselbe Verschiedenheit der Erscheinungen sich wiederholen, welche R. Koch beobachtete, als er tuberkulösen resp. nichttuberkulösen Meerschweinchen abgetötete, zerriebene Tuberkelbacillen unter die Haut spritzte; während erstere bei sehr geringen Mengen innerhalb 6–48 Stunden starben, blieben letztere am Leben und zeigten höchstens eine lokale Eiterung an der Injektionsstelle.

Es kann nach den letzten Erfahrungen auf diesem Gebiete keinem Zweifel mehr unterliegen, daß wir es in diesem grundlegenden Experi-

mente Kochs mit den Erscheinungen der Anaphylaxie zu tun haben, und daß sich in unseren Versuchen die weit auseinanderliegenden Empfindlichkeitsgrade für das eingeführte Gift nur durch die Annahme erklären lassen, daß die Tiere bereits vorher an der Infektion erkrankt waren, deren abgetötete Erreger wir ihnen zuführten. Die noch größere Giftigkeit bei Einspritzung in den Tumor selbst dürfte darauf zurückzuführen sein, daß Zellgebiete, welche einmal bestimmte Toxine resorbiert haben, für sie eine höhere Resorptionsfähigkeit behalten. Darauf weist wenigstens eine bei der Ophthamoreaktion des Tuberkulins gemachte Erfahrung hin. Träufelt man einem gesunden Menschen nach 8–14 Tagen Tuberkulin zum zweiten Mal in dasselbe Auge, so reagiert er heftig, auch wenn er vorher nicht reagiert hatte.

Als letzten Beweis für die Spezifität des Erregers führe ich noch die durch Immunisierung mit seinen abgetöteten Kulturen erzielten Heilungen an. Ein Zufall ist bei den Tierversuchen ausgeschlossen. Ich habe zur Veröffentlichung eine Versuchsserie ausgewählt, welche nur Tiere mit äußerst virulenten Geschwülsten umfaßt. Sowohl in den ihr vorausgehenden als auch in den ihr nachfolgenden Generationen war der Prozentsatz der sich nach der Transplantation entwickelnden Geschwülste 100; spontaner Rückgang von Tumoren wurde auf dieser Höhe der Entwicklung nicht mehr beobachtet. Die nicht immunisierten Kontrolltiere gingen ohne Ausnahme infolge der Geschwulstentwicklung zugrunde.

Die ferner beim Menschen im Anschluß an die Immunisierung mit einem aus den Reinkulturen hergestellten Präparate beobachteten Rückbildungen maligner Tumoren dürften der Kette der Beweise für die Spezifität des Erregers das letzte Glied einfügen. Außer über meine eigenen Erfahrungen verfüge ich über mehr als 100 Berichte von Aerzten, die bestätigen, daß bei methodischer Anwendung des Präparates sich Rückbildungen in den Geschwülsten einstellten, die in einem großen Prozentsatz der Fälle zu dauerndem Stillstand der Geschwulstentwicklung, in einem kleineren zu definitiver Ausheilung führten. Selbst dem größten Skeptiker dürfte es schwer fallen, zu behaupten, daß in allen diesen Fällen Fehldiagnosen gestellt worden sind und die Erfolge auf Täuschung beruhen. Fehldiagnosen sind schon deshalb anzuschließen, weil es sich in neun Zehntel der Beobachtungen um Rezidive handelt, die Diagnose nach der ersten Operation also durch die mikroskopische Untersuchung gestellt werden konnte und auch, wie ausdrücklich vermerkt wird, gestellt worden war. Täuschungen der behandelnden Aerzte bei der Beurteilung des Resultates sind um so unwahrscheinlicher, als sie alle mit größter Reserve und Voreingenommenheit die Kur begannen, ein Verhalten, das sich leicht erklären läßt, wenn man berücksichtigt, daß in allen Sammelwerken, Referaten etc. sich der Satz wiederholt, daß meine Lymphe einer ernsthaften Nachprüfung nicht standgehalten habe! Schöne (14) weist auf diese Nachprüfer hin, wenn er sagt: „Myler und Czerny haben mit dem Schmidtschen Verfahren einen therapeutischen Effekt nicht erzielt.“

Ueber die Czernyschen Versuche hat zuletzt Baisch berichtet und habe ich sofort dazu Stellung genommen (15), indem ich ausführte, daß es sich erstens um ganz schwere Fälle handelte und daß zweitens bei ihnen die Kur nur kurze Zeit, keinesfalls aber bis zur Verwendung der zur Erzielung eines Erfolges unbedingt nötigen großen Dosen, durchgeführt wurde. Baisch betont auch selbst diese beiden Punkte und

führt zu dem letzten aus, daß die meisten von den 7 Patienten, bei denen die Behandlung eingeleitet worden war, nicht in der Lage waren, die für solche Injektionsversuche nötige Zeit in der Klinik zu verbleiben.

Die von Myler (16) publizierten Fälle haben erst recht keine Beweiskraft, weil er gar nicht mit der von mir benutzten Lymphe, sondern mit abgetöteten Kulturen des *Micrococcus neoformans* Doyen gearbeitet hat. Durch ein Mißverständnis erhielt sowohl das Middlesex als auch das St. Bartholomew Hospital in London diese statt meiner Lymphe zu Versuchszwecken aus meinem Laboratorium zugesandt. Ich habe sofort, nachdem ich von diesem Mißgriff Kenntnis erhalten hatte, die Vorstände beider Hospitäler durch Dr. Johnson davon benachrichtigt und gebeten, die Versuche als nicht beweiskräftig abzubrechen, was auch zugesagt wurde. Unverständlich bleibt es, daß Myler die Resultate dennoch veröffentlichte und obendrein, ohne dieser Tatsache Erwähnung zu tun.

Zusammenfassung.

I. Es gelang bei weiteren zwei Tieren durch Injektion meines von menschlichen Carcinomen stammenden *Mucor racemosus* maligne Geschwülste zu erzeugen, wodurch die Gesamtzahl der Beobachtungen auf zehn erhöht wird.

II. Abgetötete Reinkulturen dieses *Mucor* haben für sarkomkranke Ratten immunisierende Wirkungen; subkutane Anwendung führte in einem hohen Prozentsatz der Fälle, selbst bei umfangreichen Geschwülsten, zur Heilung.

III. Die Wirkung des *Mucor* resp. des in ihm, als Zwischenwirt, parasitisch lebenden Erregers ist eine spezifische. Die Spezifität wird bewiesen:

1) durch die bei carcinom- und sarkomkranken Menschen und Tieren auftretende allgemeine und lokale Reaktion nach subkutaner Einverleibung kleinster Mengen der Reinkultur;

2) durch die anaphylaktischen Erscheinungen, welche sich bei Tieren mit malignen Geschwülsten nach der ersten Injektion dieser Reinkultur einstellen;

3) durch die bis zur vollständigen Heilung gehenden Einwirkungen ihrer Antigene auf maligne Tumoren bei Tieren und Menschen, welche sich nur durch die Entstehung von entsprechenden Immunkörpern erklären lassen.

Literatur.

- 1) Schmidt, O., Centralbl. f. Bakteriolog. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. Heft 3.
- 2) Lewin, C., Die bösartigen Geschwülste.
- 3) Schmidt, O., Mitteilungen aus Dr. Schmidts Laboratorium f. Krebsforschung.
- 4) Baisch, Dtsch. med. Wochenschr. 1908. No. 7.
- 5) Schuberg, Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 16.
- 6) Kölsch, Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. 16.
- 7) Lewin, C., Dtsch. med. Wochenschr. 1909. No. 16.
- 8) Hüppe, Naturwissensch. Einführung in die Bakteriologie.
- 9) v. Dungern und Werner, Das Wesen der bösartigen Geschwülste.

- 10) Schmidt, O, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 4.
- 11) — —, Wien. med. Wochenschr. 1908. No. 27 u. 28.
- 12) v. Pirquet, Handbuch d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung. Bd. 1.
- 13) Kraus und Dörr, Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 28.
- 14) Schöne, Die deutsche Klinik. Bd. 12. Ergänzungsbd. 1.
- 15) Schmidt, O., Dtsch. med. Wochenschr. 1908. No. 11.
- 16) Myler, Arch. of the Middlesex Hospital. London. 1904.

Nachdruck verboten.

La rage ab ingestis dans les souris.

[Institut Antirabique de Sassari.]

Par le Dr. U. Cano.

L'importante question de savoir si l'on peut communiquer la rage aux souris par ingestion de matière rabique m'a poussé à faire des expériences à ce sujet. Je pris 98 souris blanches que je mis dans dix cages dont chacune contenait 10 de ces animaux. Je les nourris tous les jours jusqu'à leur mort, de cervelle de lapin ou de chien mort de virus fixe de Sassari. Je préparai le virus fixe mêlé à des grains, de sorte que chaque souris pût avoir d'un à deux grammes de matière rabique.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus.

Numéro d'ordre des cages	Mortalité par suite de la rage
1	4:8
2	10:10
3	3:10
4	5:10
5	8:10
6	4:10
7	5:10
8	5:10
9	4:10
10	3:10

De ce tableau on voit que (confirmant le fait trouvé par Fermi) sur 98 souris qui ont mangé tous les jours jusqu'à leur mort d'un à deux grammes de virus fixe de Sassari, 51 eurent la rage, ayant ainsi une mortalité du 52%. La mort survenait en général entre le 9^e et le 12^e jour, avec deux cas d'un minimum de 8 jours et un seul cas d'un maximum de 17 jours. Par conséquent, si nous calculons la période d'incubation de 7 jours, on peut croire que l'infection est survenue après le 2^e jour et le 5^e jour dès le commencement de l'ingestion. Seulement, en deux cas, l'infection serait survenue après un jour et dans l'autre après 10 jours.

*Nachdruck verboten.***Trypanosoma Lewisi in Haematopinus spinulosus.**

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.

Leiter: Medizinalrat Prof. Dr. Nocht.]

Von Oberarzt Dr. E. Rodenwaldt.

Mit 3 Tafeln und 1 Textfigur.

Das Problem, ob es bei den Trypanosomen und ihren nächsten Verwandten einen Entwicklungskreis gibt derselben Art wie bei den Hämosporidien ist, ungelöst, weder im positiven Sinne seines Vorhandenseins noch im negativen seiner Nichtexistenz. Lückenlos ist keine der Beweisführungen, welche die verschiedensten Autoren zugunsten einer Entwicklung im Zwischenwirt angeführt haben, ebensowenig lückenlos sind aber auch die kritischen Einwände der vom Gegenteil überzeugten Autoren. Ihre Hyperskepsis, hervorgegangen zum Teil aus theoretischen Erwägungen (Patton), zum Teil aus negativem Ausfall ihrer Untersuchungen (Nuttall, Strickland) ist geeignet, eine gewisse hoffnungslose Stagnation in das Arbeitsfeld dieses Problems zu tragen, für welche bei näherer Betrachtung der angeführten negativen Schlüsse ein zureichender Grund nicht gefunden werden kann.

Es ist im wesentlichen ein einziges, immer wiederkehrendes Argument, mit welchem den aus den Insektenmagen beschriebenen sogenannten Entwicklungsformen der Trypanosomen begegnet wird, das Argument, es handle sich bei diesen Formen um eigene Parasiten (natural parasites) der betreffenden Insekten aus der Gattung *Crithidia* und *Herpetomonas*. Soweit Fliegen und ihre Verwandten, soweit Flöhe in Betracht kommen, entbehren diese Einwände nicht der Grundlage, denn in der Tat beherbergen viele dieser Insekten eigene Parasiten, die sie meist erblich übertragen. Jene Autoren, welche die in den Insekten gefundenen Formen ohne weiteres als Entwicklungsformen der Trypanosomen ansprechen, haben einerseits um das Vorhandensein dieser Parasiten noch nicht gewußt, andererseits sind sie nicht imstande gewesen, diese Formen mit bestimmter Sicherheit von den Formen der eigenen Parasiten des Insektes zu trennen. Ebensowenig aber haben die Kritiker für ihre Anschauung den umgekehrten Beweis erbracht, daß alle im Insektenmagen gefundenen Formen unbedingt nur zu den Eigenparasiten der Insekten gehören. Dies gilt in erster Linie für die Untersuchung des Darminhalts der Tsetsen, weiter für den der Flöhe. Kann also hier schon den Skeptikern mit gleichem Recht entgegengehalten werden, sie möchten den Beweis für ihre kritische Auffassung erbringen, wie sie ihren Gegnern den Mangel lückenloser Beweisführung vorwerfen, so muß die Skepsis als vorläufig ganz unberechtigt angesehen werden, wo es sich um Insekten handelt, bei denen eigene Parasiten bisher nicht nachgewiesen wurden.

Nuttall, Patton, Strickland halten die von v. Prowazek beschriebenen Entwicklungsformen des *Trypanosoma Lewisi* im Magen von *Haematopinus spinulosus* für einen Irrtum, sie sind der Ansicht, v. Prowazek sei durch eigene Parasiten der Läuse getäuscht worden, seine Formen gehörten sämtlich in den Entwicklungskreis eines Eigenparasiten der Rattenlaus. Patton im besonderen, dem die Auffindung der von v. Prowazek beschriebenen Formen nicht gelungen

ist, geht so weit, auf Grund der Abbildungen v. Prowazeks, und nur auf Grund dieser, eine neue Species aufzustellen, welche er *Crithidia haematopini* n. sp. (Patton) nennt. Also Formen, die bisher weder er selbst noch ein anderer außer v. Prowazek (und zum Teil Baldrey) gesehen hat, weder in Läusen von uninfizierten noch in solchen von infizierten Ratten, Formen, die er nur aus den Abbildungen v. Prowazeks kennt, benennt Patton als neue, von ihm erkannte Species. Wahrlich, ein schmeichelhaftes Ergebnis für v. Prowazek, daß seine Abbildungen Objekten eigener Beobachtung — denn die gehört dazu, wenn man eine neue Species benennt — gleichgeachtet werde.

Patton gibt übrigens zu, daß er seine *Crithidia haematopini* niemals in Läusen von uninfizierten Ratten gesehen hat, ebensowenig haben Nuttall und Strickland sie jemals gesehen, letzterer bei Untersuchung von 263 Läusen. Auch v. Prowazek hat niemals in solchen, sagen wir „reinen“ Läusen eine *Crithidia* oder *Herpetomonas* gesehen; wenn er es nicht ausdrücklich erwähnte, so geschah es, weil die Voruntersuchung reiner Läuse selbstverständlich war. Ebensowenig hat Gonder (persönliche Mitteilung) bei Untersuchung zahlreicher Läuse jemals eine *Crithidia* gesehen, auch ich habe bei den meinen Versuchen vorausgehenden Kontrolluntersuchungen bei den benutzten Läusestämmen niemals eine *Crithidia* oder ähnliches gefunden.

Wo ist also diese postulierte *Crithidia haematopini* n. sp. (Patton)? Bevor sie nicht in Läusen nachgewiesen wird, die von sicher trypanosomenfreien Ratten stammen, ist sie dem schwarzen Mann gleichzustellen, mit dem man die Kinder schreckt.

Mit mehr Recht als Patton ziehen auf Grund sorgfältiger Versuchsreihen Nuttall und Strickland die Ergebnisse v. Prowazeks in Frage. Nuttall ist es gelungen, sowohl mit Flöhen zweier Species wie mit der Rattenlaus das *Trypanosoma Lewisi* zu übertragen, und zwar mit Flöhen leichter als mit Läusen. Er schließt infolgedessen, daß die Annahme eines Entwicklungskreises unwahrscheinlich sei, weil die Trypanosomen durch drei verschiedene Parasiten übertragen würden. Es sei hier aber gleich bemerkt, daß ihm die Uebertragung durch Flöhe in 7—10 Tagen, durch Läuse erst in 14 Tagen gelungen ist. Strickland, der sich im übrigen Nuttall anschließt, hat bei 263 Läusen von uninfizierten Ratten keinerlei Parasitenformen in Läusemagen gefunden, bei 104 Läusen, die an infizierten Ratten gesessen hatten, hat er bei 53 Trypanosomen gefunden, aber unverändert. Bei 15 Läusen, die, von infizierten Ratten abgesammelt, 18—48 Stunden gehungert hatten, hat er bei 7 Trypanosomen gefunden, aber auch hier unverändert. Seine Untersuchungen sind nur an Trockenpräparaten angestellt. Er kommt zu dem Schluß, daß die Annahme eines Entwicklungskreises zu verwerfen sei. Sollte er hiermit nicht auch seinerseits einer zu weitgehenden Analogie mit den Hämosporidien anheimgefallen sein, indem er eine Entwicklung innerhalb spätestens 48 Stunden verlangt, sollte nicht eine längere Entwicklungszeit erforderlich sein?

Die Tatsache, daß von sämtlichen Nachuntersuchern (außer Baldrey s. u.) die von v. Prowazek beschriebenen Formen nicht gefunden wurden, läßt an zweierlei Möglichkeiten denken, erstens, daß die Entwicklungsvorgänge so rasch verlaufen, daß sie in der kürzesten Zeit nach dem Saugen schon beendet sind, zweitens, daß sie so langsam verlaufen, daß sie den Untersuchern, die nur die ersten Tage nach dem Saugen berücksichtigten, entgehen mußten.

Neuerdings hat Baldrey einen Teil der von v. Prowazek beschriebenen Formen wiedergesehen und ihre Deutung versucht; auf diese Ergebnisse wird später eingegangen werden.

Da die erste Annahme einer raschen Entwicklung durch Beobachtung des frischen, eben gesogenen Mageninhaltes der Laus ausgeschlossen werden kann, bleibt nur die zweite. Diese Annahme eines langsamen Verlaufes der Entwicklung, welche sich im Verlauf meiner, im März 1909 begonnenen Versuche sofort bestätigte (mitgeteilt in einer Diskussionsbemerkung auf dem II. tropenmed. Kongreß), hat ihre äußere experimentelle Begründung gefunden durch die Publikationen von Kleine, daß die Infektion bei Nagana durch *Glossina morsitans* erst vom 15. Tage ab nach dem infizierenden Saugakt übertragen werden konnte, die Infektion mit *Trypanosoma gambiense* durch *Glossina palpalis* erst vom 18.—20. Tage ab, während die Fliegen in den Zwischentagen unfähig waren, zu infizieren. Machte schon diese Publikation die Annahme eines Entwicklungskreises bei den Trypanosomen fast zur zwingenden Notwendigkeit, so sind weiter neuerdings von Kleine aus der Fliege Trypanosomenformen beschrieben worden, welche auf eine geschlechtliche Differenzierung und Entwicklungsvorgänge hinweisen. Diese Formen werden sicher von gegnerischer Seite wieder mit dem obigen Einwand als fraglich hingestellt werden, um so mehr, als für die eigenen Parasiten der Fliege eine erbliche Uebertragung wahrscheinlich ist. Sie werden trotz der zahlreichen Kontrollen Kleines für das Ergebnis die Möglichkeit eines zufälligen Zusammentreffens der Infektionstüchtigkeit und des Vorhandenseins der Fliegenparasiten in Anspruch nehmen. Diesem Einwand kann nur begegnet werden, wenn man mit einem Insekt experimentiert, bei dem nachweislich bisher eigene Parasiten nicht gefunden wurden. Aus diesem Grunde gebe ich die nachstehend beschriebenen Untersuchungen über den Entwicklungskreis des *Trypanosoma Lewisi* im *Haematopinus spinulosus* zur vorläufigen Kenntnis, weil sie einerseits an einem neuen Objekt die durch die Kleineschen Untersuchungen gegebene Feststellung bestätigen, daß die Entwicklung eines verhältnismäßig langen Zeitraumes bedarf, weil andererseits aus dem Ergebnis der über eine fortlaufende Reihe von Tagen sich erstreckenden Beobachtung das Vorhandensein einer Entwicklung eindeutig hervorgeht, und weil die beobachteten Formen und die zeitliche Reihenfolge ihres Erscheinens einen neuen Beitrag zu endgültiger Auffindung eines Entwicklungskreises bei einem *Trypanosoma* liefern.

Der derzeitige Stand meiner Untersuchungen erlaubt mir nicht, wenn ich nicht auch in den Fehler, hypothetische Zusammenhänge zu konstruieren und falsche Analogieschlüsse herzustellen, verfallen will, über den Zusammenhang der einzelnen gefundenen Formen etwas Sicheres auszusagen. Sie werden infolgedessen nur in der Reihenfolge, in welcher sie im Läusemagen gefunden wurden, beschrieben und abgebildet werden. Dagegen lassen sich aus den allgemeinen Verhältnissen der durchgenommenen Versuchsreihen einige bindende Schlüsse ziehen, welche das Problem doch wieder als der Bearbeitung bedürftig und wert erscheinen lassen. Diese Ergebnisse sind:

1) daß niemals in Läusen, die an uninfizierten Ratten gesogen hatten, Trypanosomen oder irgend etwas ihnen ähnliches gefunden wurde. Dieses negative Resultat haben auch Patton, Nuttall, Strickland, v. Prowazek, Gonder zu verzeichnen, die sogenannte *Crithidia haematopini* Pattons existiert also nicht.

2) In Läusen, die an infizierten Ratten gesogen haben, werden fast immer Trypanosomenformen gefunden; wenn nicht, handelt es sich um junge Läuse, in älteren werden sie immer gefunden.

3) In der Regel werden in den ersten 4 Tagen, sicher an den ersten 2 Tagen, andere Formen als unveränderte oder abgestorbene Trypanosomen nicht gefunden und außerdem in von Tag zu Tag steigender Zahl Formen, welche ich vorläufig mit dem nichts prätendierenden Namen Lanzettformen und Kernteilungsformen bezeichne. Außerdem finden sich abgestorbene und zerfallende Trypanosomen.

4) Vom 5.—7. Tage an (in einem Fall am 3. Tage) treten Crithidia- und Leptomonas-Formen sehr verschiedener Gestalt auf, und es finden sich Teilungsvorgänge von Rosettenform mit Sprößlingen, die von den Bluteilungsformen abweichend gebildet sind.

5) Vom 12. Tage an werden alle vorstehend genannten und andere später zu erwähnende Formen nebeneinander in sämtlichen Präparaten gefunden.

Anmerkung. Wir würden also, wenn Patton recht hätte, vor dem absurden Zufall stehen, daß, während sämtliche „reinen“ Läuse crithidienfrei befunden werden, alle Läuse von infizierten Ratten vom 12. Tage ab sämtlich Träger der *Crithidia haematopini* wären.

Die Beobachtung der Läuse über eine Reihe von über 12 Tagen läßt sich nur durchführen mit Hinzunahme einer Störungsquelle. Da die Läuse spätestens nach 48 Stunden absterben, kann man die Entwicklung durch fortgesetzte staffelweise Untersuchung von an einem bestimmten Tage abgenommenen Läusen nicht beobachten, man muß vielmehr die Läuse auf der infizierten Ratte, die mit ihnen besetzt wurde, belassen, um dann täglich die benötigte Anzahl zur Untersuchung herunterzunehmen. Dabei erhält man natürlich in jeder Laus sämtliche Formen nebeneinander, also auch am 12. Tage neben den Formen der bis zu diesem Tage fortgeschrittenen Entwicklung gleichzeitig auch noch Formen des ersten Tages, denn auch an diesem 12. Tage hat die Laus noch frisch gesogen. Unerläßlich ist bei diesem Vorgehen selbstverständlich auch die tägliche Kontrolle des Blutes der Ratte selbst auf das Vorhandensein der Infektion oder das etwaige Auftreten besonderer Formen, wie man sie in den ersten Tagen der Infektion findet. Der konkrete Versuch im einzelnen gestaltet sich so:

1) Eine wilde Ratte, die trypanosomenfrei und stark mit Läusen besetzt war, wurde getötet und ihre sämtlichen Läuse auf eine frisch infizierte, aber läusefreie Ratte übertragen. (Durch Heranhalten in dem Zeitpunkt, wenn die Läuse den Kadaver zu verlassen streben.) Zuvor wurde eine Anzahl der Läuse der wilden Ratte auf das Vorhandensein von eigenen Parasiten untersucht.

2) Von der infizierten Ratte wurden von 24 zu 24 Stunden Läuse entnommen, der Mageninhalt zunächst in Kochsalzaufschwemmung frisch untersucht, dann das Deckglas abgezogen, fixiert und gefärbt. Gleichzeitig wurde das Blut der Ratte frisch und im Ausstrich untersucht. Von der feuchten Fixierung und Weiterbehandlung der Präparate wurde abgesehen, da das Studium feinerer cytologischer Details vorläufig nicht beabsichtigt wurde.

Diese Versuchsanordnung, auf deren Details in einer späteren Arbeit eingegangen werden soll, stößt insofern auf Schwierigkeiten, als 1) die Ratten bemüht sind, sich von den Läusen zu reinigen, deshalb häufig nach einigen Tagen keine Läuse zur Untersuchung zur Ver-

fügung stehen (dem kann zum Teil vorgebeugt werden, wenn man die Ratten in dunklen Käfigen hält), 2) daß während der Beobachtungszeit mitunter gerade die Trypanosomen aus dem Blut der Ratte verschwinden. Wäre die Ausbildung der Entwicklungsformen ein sehr häufiger Vorgang, so wäre dies letztere an sich gleichgültig, die Entwicklung müßte ja ruhig fortschreiten, sie ist aber wahrscheinlich unter den vielen der Laus einverleibten (indifferenten) Trypanosomen nur ein seltener Fall, so daß nur aus der Summierung der Formen aus verschiedenen sukzessiven Saugakten infizierten Blutes im einzelnen Fall ein an Entwicklungsformen reicher Läusemageninhalt resultiert; deshalb findet man sie mit Sicherheit auch erst vom 12. Tage an, während sie schon vom 4. Tage an entstehen.

Zu diesen beiden Störungen kommt hinzu, daß von den wilden Ratten meist nur alte säugende Weibchen stark mit so viel Läusen besetzt sind, daß der Versuch lohnt, daß aber von diesen wieder etwa die Hälfte natürliche chronische Trypanosomiasis haben, so daß ihre Läuse für den Versuch unbrauchbar sind. Es empfiehlt sich daher, mehrere gleichzeitig infizierte Ratten mit möglichst vielen Läusen zu besetzen, wenn man für über 10 Tage Material haben will.

Aus diesen Gründen ist es mir innerhalb 5 Monaten nur 4mal gelungen, einwandfreie Versuchsreihen durchzuführen, von denen eine bis zum 6. Tage, eine bis zum 8. Tage, eine bis zum 19. Tage, eine bis zum 6. Tage, dann nach längerer Unterbrechung wieder vom 26. bis zum 28. Tage durchgeführt wurde. Die Versuche gehen zurzeit weiter.

Den Vorteil direkter Beobachtung der Entwicklung im frischen Präparat wie bei der Malaria besitzen wir hier nicht, in den ersten Stunden nach dem ersten Saugakt an der infizierten Ratte habe ich niemals irgend etwas von Entwicklung im frischen Präparat gesehen. Trotzdem darf die Beobachtung im frischen Präparat unter keinen Umständen unterbleiben, weil wir nur im frischen Präparat über die äußerst charakteristischen Bewegungsarten der einzelnen Formen ein Urteil gewinnen können.

Die genannten 4 Versuchsreihen haben, soweit sie parallel laufen, ein mit einer Ausnahme völlig paralleles Resultat gehabt. Es handelt sich in dieser Ausnahme um den Versuch 3, bei dem in einer Laus schon am 3. Tage Crithidia-Formen gefunden wurden, während sie in den anderen 3, am selben Tage angefertigten Präparaten fehlten und überhaupt sonst erst vom 5. Tage an auftraten. Diese Ausnahme ist meiner Ansicht nach auf eine ebenfalls schwer auszuschheidende Fehlerquelle zurückzuführen, daß nämlich die betreffende Ratte vor ihrer Besetzung mit „reinen“ Läusen schon einige eigene Läuse hatte, die natürlich ihr infiziertes Blut schon länger sogen, also auch schon Entwicklungsformen beherbergen konnten. Solche einzelnen Läuse entgehen bei Untersuchung der Ratte vor der Besetzung leicht der Beobachtung und lassen sich auch durch Abäthern des Pelzes nicht immer sicher sämtlich abtöten. Abgesehen von dieser Ausnahme, war das Resultat der 4 Versuchsreihen folgendes:

I. Tag: Frisches Präparat: Einige abgestorbene Trypanosomen, welche identisch sind mit denen aus dem Blut der Ratte. Zahlreiche lebhaft bewegliche Trypanosomen von gleicher Gestalt und Bewegung wie im Rattenblut. Diese bewegen sich meist in Bogen- oder Kreislinien, so daß man ihre Bewegung in ein und demselben Gesichtsfeld

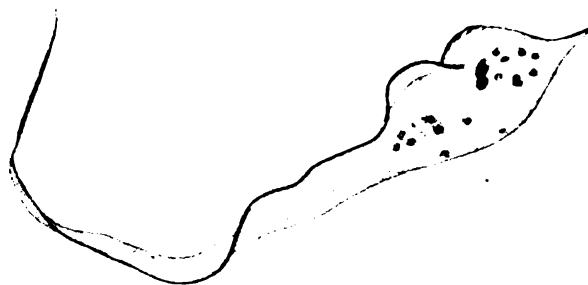
leicht beobachten kann. Ihre Bewegung ist nicht so schnell, daß man das Undulieren ihrer Membran nicht deutlich sehen könnte, ihre Geißel geht voran. Mitunter findet man sie agglomeriert. Einige von ihnen erscheinen etwas starrer in dem zwischen Blepharoplast und Hauptkern gelegenen internukleären (Minchin) Teil ihres Leibes als die Blutformen; sie sind wahrscheinlich identisch mit den sogenannten Kernteilungsformen des gefärbten Präparats. Vereinzelt finden sich daneben sehr dünne, schlanke Formen, welche blitzschnell und in gerader Linie das Gesichtsfeld durchschießen, indem sie dabei eine oszillierende Bewegung ihres Körpers ausführen, die so rasch ist, daß sie das Beobachten morphologischer Details unmöglich macht. Verfangen sie sich irgendwie, so vibrieren sie auf der Stelle, man kann dann aber sehen, daß ihnen das schnabelähnliche Vorderende der anderen Form fehlt. Diese schlanken, geschwunden Formen sind identisch mit den sogenannten Lanzettformen des gefärbten Präparats.

Gefärbtes Präparat: In der Mehrzahl finden sich Trypanosomen, welche morphologisch absolut denen des Rattenblutes gleichen (Fig. 1—3); in einer Versuchsreihe, bei welcher im Rattenblut noch junge Formen vorhanden waren, fanden sich auch diese unverändert im Magen der Laus.

Einige Trypanosomen zeigen bei allgemeiner Erhaltung der Lewisiform eine beginnende Teilung des Hauptkernes, ohne daß am Blepharoplast irgendein Teilungsvorgang zu sehen wäre. Diese Teilung ist in wenigen Exemplaren schon vollendet; beide Teilkern erscheinen gleich und vollwertig und haben je 8 Chromosomen. Der eine Kern liegt etwa in der Mitte des Plasmaleibes, der andere dem Geißelende genähert (Fig. 4 und 5).

Außerdem finden sich einige Lanzettformen, d. h. Trypanosomen von durchaus anderer Gestalt als das Trypanosoma Lewisi des Blutes, mit einem breiten, lanzettartigen, bilateral symmetrischen Hinterende, welches flach ist (es ist gelegentlich umgeknickt), also geformt wie eine flache Lanzettspitze (Fig. 7 und 8). Der Lage des Blepharoplastes entsprechend erscheint das Trypanosoma etwas schmaler; unmittelbar vor dem Blepharoplast liegt der Kern, der etwas länger erscheint als gewöhnlich, mitunter eine leiterartige Struktur zeigt (Fig. 10 und 11). Genau die gleiche Form hat

Stuhlmann für Trypanosomen aus der Tsetse abgebildet. In das Lanzettende hinein erstrecken sich häufig von den querstäbchenförmigen Blepharoplasten aus zwei Reihen von Körnchen, 3—5 auf jeder Seite (siehe Textabbildung und Fig. 9 und 10). Ich bin geneigt, die Abstoßung dieser Körnchen als eine Reduktionserscheinung seitens des Blepharoplasten anzusprechen, wie ich auch in der Teilung des Hauptkernes bei den erst beschriebenen Formen einen Reduktionsvorgang sehen möchte. Zwischen den Kernteilungs- und Lanzettformen finden sich Uebergänge, d. h. es kommen Lanzettformen vor mit 2 Kernen, einer neben dem Blepharoplasten liegend, der andere weiter nach vorn



Gequetschtes Trypanosoma zur Darstellung der vom Blepharoplast ausgehenden Körnchenreihen.

liegend (Fig. 12). Hiernach scheint es doch, als ob die Lanzettformen die späteren seien.

Es sei hier in Parenthese bemerkt, daß, soweit sich aus Abbildungen Vergleiche ziehen lassen, die erstgenannten Kernteilungsformen mit den von Kleine unter Fig. 5 und 6, die Lanzettformen mit den unter 33, 34, 35 abgebildeten Formen übereinzustimmen scheinen (Deutsche med. Wochenschr. 1909. No. 29. p. 1258/1259).

II. Tag: Ungefärbtes Präparat: Im allgemeinen ähnliches Bild wie am ersten Tage, doch finden sich mehr Kernteilungs- und bedeutend mehr Lanzettformen, durch ihre charakteristische Bewegung sehr auffallend. Zahlreicher sind auch die Agglomerationshaufen, an denen aber die Lanzettformen sicher unbeteiligt sind.

Gefärbtes Präparat: In allen Punkten mit Ausnahme der relativen Verschiebung in der Anzahl der Formen dem ersten Tage entsprechend.

III. Tag: Sowohl im frischen wie im gefärbten Präparat der gleiche Befund wie an den ersten beiden Tagen, jedoch dauernde Zunahme der Lanzettformen. Die eine Ausnahme, daß in einer Laus an diesem Tage schon *Crithidia*-Formen erschienen, ist bereits oben erwähnt und begründet worden. Die Formen selbst sollen weiter unten beschrieben werden.

IV. Tag: Sowohl im frischen wie gefärbten Präparat Befund wie bisher; die Lanzettformen und Kernteilungsformen haben weiter an Zahl zugenommen, unter den letzteren finden sich gelegentlich auch dreikernige Formen (Fig. 6), bei den ersteren sieht man häufig, aber nur im gefärbten Präparat, in Achtertouren eingerollte Exemplare. In einem Präparat des Versuchs IV fanden sich 2, sowohl im frischen wie im gefärbten Präparat beobachtete lange breite Formen ohne undulierende Membran, die eine mit ganz kurzem Geißelanhang (Fig. 13 und 14), Formen, welche am meisten den von v. Prowazek und Baldrey als Ookineten bezeichneten Formen glichen; diese Formen bewegten sich im frischen Präparat unter leichtem Biegen ihres Körpers, aber fast gar nicht fort vom Ort ihrer Lage.

V. Tag. Befund wie an den vorhergehenden Tagen. Unter den Lanzettformen finden sich im gefärbten Präparat besonders häufig solche mit Leiterstruktur des Kernes. In Serie III wird in einem Präparat eine sichere *Crithidia*-Form gefunden, in Serie IV 2 Formen, wie sie weiterhin als Rosettensprößlinge beschrieben werden.

VI. Tag. Ungefärbtes Präparat: Neben dem gewohnten Anblick der unveränderten Trypanosomen der Kernteilungs- und Lanzettformen fallen schon im ungefärbten Präparat deutlich *Crithidia*-Formen auf, große, beiderseits spitz zulaufende Formen von Gestalt eines von oben gesehenen schlanken Bootes, welche wie der Balken einer Präzisionswage an Ort und Stelle langsam hin- und herpendeln, ohne sich wesentlich von der Stelle fortzubewegen; ihre lange freie Geißel führt dabei ausgiebig peitschend schlängelnde Bewegungen aus. Weiter finden sich, und zwar vorwiegend in Massen schon stark verdauter Blutkörperchen in dem gelben, klebrigen, gallertigen Darminhalt, Rosetten, welche aus 8–10 Exemplaren entstehen, die mit ihrer kurzen Geißel zusammenhängen. Die Rosettensprößlinge sind zum Teil, und zwar meist zu zweien losgerissen und isoliert und führen gegen- und voneinander eigenartige, zuckende, ruckartige Bewegungen aus, als ob sie sich zu trennen strebten. Diese Formen fanden sich bei 3 Versuchsreihen am 6. Tage, bei einem erst am 7. Tage.

Im gefärbten Präparate zeigen sich die oben beschriebenen 3 schon bekannten Formen, außerdem findet sich, daß die lebend beobachteten, an Ort und Stelle pendelnden Formen zum Teil Crithidia-Formen mit mehr oder minder langer Geißel sind (Fig. 18, 19, 20, 21, 22, 23), zum kleinen Teil Leptomonas-Formen (Fig. 26, 27), zum Teil Formen, welche ein Vorbeiwandern des Blepharoplasts am Hauptkern darstellen (Fig. 15); für jedes Stadium dieser Wanderung finden sich Belegexemplare. Aus dem gefärbten Präparat geht weiter hervor, daß die Crithidia-Formen schollenartig abgeplattet sind, denn es finden sich häufig an ihnen scharfe Knicke und Faltungen, wie sie bei den normalen Trypanosomen vermißt werden (Fig. 22 und 17). Die undulierende Membran liegt vielfach nicht auf der einen Seite der Scholle, sondern geht auf ihre eine Fläche heran, zu dem mitunter stäbchenförmigen, häufig dem Hauptkern sehr nahe anliegenden Blepharoplast (Fig. 23). Es sieht dann so aus, als wäre der Blepharoplast eben erst aus dem Hauptkern herausgetreten, vorher mit ihm verschmolzen gewesen.

Die Leptomonas-Formen, die verhältnismäßig selten gefunden wurden, sind beiderseits etwas abgerundet, ihr Blepharoplast liegt deutlich vor dem Kern, ihre Geißel ist frei, kürzer als die der Crithidia-Formen.

Während die bisher beschriebenen Formen in ihrem allgemeinen Aussehen, Dichte des Cytoplasmas und der Kerne in der Färbung sich ähnlich waren, zeigen die einzelnen Sprößlinge der Rosetten ein tinktoriell hiervon ganz verschiedenes Verhalten. Es handelt sich um kurze, breite, anscheinend ebenfalls schollenförmige Formen mit sehr dunkel sich färbendem Plasma, so daß die Betrachtung der Kernverhältnisse sehr erschwert wird. Jedoch läßt sich bei einzelnen Exemplaren deutlich erkennen, daß der etwas längsovale Blepharoplast meist schräg neben und nach vorn von dem ziemlich lockeren Hauptkern liegt. In seiner Nähe entspringt ein dicker, kurzer Geißelapparat, welcher frei wird und mit dem des Nachbarindividuums verklebt ist. Fast stets werden im gefärbten Präparat die Rosetten in Paare zersprengt gefunden (Fig. 28, 29, 30).

In den jetzt folgenden 7., 8., 9. Tag finden sich die beschriebenen Formen von Tag zu Tag häufiger. Bei den Crithidia-Formen sind deutliche Zweiteilungsvorgänge zu beobachten. Die Leptomonas-Formen bleiben selten. Am meisten nehmen die Rosetten und ihre einzelnen Sprößlinge an Zahl zu.

Vom 10. Tage ab werden, im frischen Präparate unter den anderen Formen nicht besonders auffallend, gefunden:

1) Runde geißellose Formen mit deutlich unterschiedenem Hauptkern und Blepharoplast (Fig. 31—34).

2) Ziemlich plumpe Formen mit spitz zulaufenden Vorder- und Hinterenden, mit sehr dicker, häufig wie aus mehreren Fibrillen zusammengesetzter Geißel. Auch bei diesen Formen färbt sich das Plasma intensiv dunkel, ihr Blepharoplast liegt meist neben, jedenfalls in unmittelbarer Nähe des Hauptkerns. Es macht ganz den Eindruck, als ob diese Formen aus den Rosettensproßlingen herausentwickelt würden. Am häufigsten wurden sie am 13. Tage (Vers. III) gefunden (Fig. 35—39).

3) Kurze, plumpe, geißellose Formen (Fig. 40—47) in spärlicher Anzahl.

Auch diese Formen zeigten Ähnlichkeit mit den von v. Prowazek abgebildeten und als Ookineten gedeuteten; sie scheinen vom 4. Tage an auftreten zu können.

Soweit die in größerer Anzahl gefundenen Formen.

Bei Versuch III wurden am 10. Tage die in Fig. 48 wiedergegebene Form, bei Versuch IV am 26. Tage die in Fig. 49 wiedergegebene Form gefunden; beide Formen lassen am ehesten an einen Kopulationsvorgang denken. Da sie im frischen Präparat nicht beobachtet wurden, läßt sich jedoch dieser Schluß mit einiger Sicherheit nicht ziehen. Für die von Baldrey als Kopulationsform abgebildete Form erscheint dieser Schluß allerdings noch weit gewagter.

Im Versuch IV wurden am 26. Tage in mehrfacher Anzahl Formen wie Fig. 50 und 51 gefunden, rundlich-ovale Gebilde mit einem zentralen Hauptkern, beiderseits davon symmetrisch gelegenen Blepharoplasten, von denen abortive Geißelapparate auszugehen scheinen. Das Vorderende erscheint wie aufgespalten und mit einem Pinsel von Geißelfasern besetzt. Eine ähnliche Form wurde auch bei Versuch III am 10. Tage gefunden. Es scheint sich hier um Teilungsvorgänge zu handeln; aus welcher Form sie sich bilden, ist nicht zu erkennen. Im allgemeinen ist zu sagen, daß sowohl die Crithidia-Formen, wie die Rosettenformen in Präparaten von späteren Tagen an Größe abnehmen, so daß sich in Präparaten vom 28. Tage bei Versuch IV eine Reihe von sehr kleinen, teilweise fast splitterartig aussehenden, stark dunkel tingierten Formen fanden, die zum Teil mit den von Baldrey beschriebenen kleinsten Crithidien identisch sein könnten (s. Fig. 52—58). Sie stammten aber aus dem Darm, nicht aus der Leibeshöhle, woher ich überhaupt niemals eine Form habe gewinnen können. Ihnen fehlte häufig eine freie Geißel, auch war Blepharoplast und Hauptkern nicht deutlich zu scheiden; mitunter waren in ihnen nur 2 anscheinend gleich große Chromatinmassen zu sehen. So zeigten einige von ihnen eine gewisse Aehnlichkeit mit den Sporozoiden der Malariaplasmodien (s. Fig. 59).

Eine schlanke Crithidia-Form (Fig. 60) vom 9. Tag erinnerte am meisten an die von Kleine abgebildeten, von ihm als männliche gedeuteten Formen. Jene von Kleine unter Fig. 16, 17, 18, 19, 20 seiner Arbeit gegebenen Formen als männliche anzusprechen, möchte man aus zweierlei Gründen Bedenken tragen; erstens spricht die veränderte Lage des Blepharoplast vor dem Kern dafür, daß schon eine Veränderung vor sich gegangen ist, zweitens besitzen im frischen Präparat derartige Formen, die man schon als Crithidia-Formen bezeichnen muß, nach meinen Beobachtungen eine weit geringere Beweglichkeit als die unveränderten Trypanosomen. Wenn man von dem Kriterium der Beweglichkeit ausgeht, und dies kommt für die männlichen Formen sicher in Betracht, so müßte man in erster Linie die Lanzettformen mit den Leiterkernen als männliche Formen ansprechen.

Ohne Deutung des Zusammenhangs und der Bewertung der einzelnen Form ergibt sich dem Zeitpunkt des Erscheinens nach folgende Reihenfolge der verschiedenen Formen:

Unveränderte Trypanosomen.

Kernteilungsformen }
Lanzettformen } an allen Tagen täglich an Zahl zunehmend.

Geißellose Formen (?) vom 4. Tage ab.

Große Crithidia-Formen vom 5. Tage ab.

Mit ihnen gleichzeitig Leptomonas-Formen vom 5. Tage ab.

Rosetten vom 5. Tage ab.

Paare von Rosettensproßlingen vom 5. Tage ab.

Freie Rosettensproßlinge nach dem 6. Tage.

Kurze Crithidia-Formen mit kurzer dicker Geißel nach dem 10. Tage.

Teilungsformen nach dem 10. Tage.

Kleine Crithidia-Formen nach dem 15. Tage.

Splitterförmige, sporozoitenähnliche Gebilde nach dem 20. Tage.

Ein Teil der beschriebenen und abgebildeten Formen ist identisch mit den von v. Prowazek abgebildeten. Auch die Baldreyschen Formen finden sich sämtlich wieder. Einige zeigen Ähnlichkeit mit den von Koch, Stuhlmann, Keysselitz und Meyer, kleine beschriebenen Formen von Trypanosoma gambiense und Brucei, andere stimmen weitgehend mit den von Fischtrypanosomen beschriebenen Entwicklungsformen überein, auch mit den Kulturformen finden sich Analogien. Auf alle diese Parallelen einzugehen, kann beim bisherigen Stand der Frage nicht von Vorteil sein.

Zum Schluß sei nochmals bemerkt, daß die vorstehenden Versuche lediglich auf die Beobachtung des angenommenen Entwicklungskreises hienzielten, so daß vorläufig subtile Fixierungsmethoden der Präparate unterbleiben konnten. Sobald die weiteren Untersuchungen Sicheres über die Stellung der einzelnen Formen im Entwicklungskreis ergeben haben werden, soll das Studium der feineren cytologischen Details, insbesondere der Kernverhältnisse, mit allen Mitteln der modernen Protozoenuntersuchung betrieben werden.

Uebertragungsversuche.

Die Uebertragung von Trypanosoma Lewisi durch Haematopinus spinulosus von Ratte zu Ratte in der allein einwandsfreien Weise¹⁾ durch Uebersetzen der Läuse von einer Ratte zur anderen ist Nuttall gelungen, allerdings nur mit einer Zahl von 30—60 Läusen. Die Zeit der künstlichen Infektion der Läuse an einer infizierten Ratte bis zum Angehen der Infektion in einer uninfizierten Ratte betrug 14 Tage. Das würde genau mit der bekannten Beobachtung stimmen, daß bei künstlicher Infektion die Ratten etwa am 7. Tage infiziert gefunden werden, und meiner Beobachtung, daß die Entwicklungsformen in der Laus am 5.—7. Tage auftreten. Das ergibt zusammen etwa 14 Tage. Das Nuttallsche Experiment ist also geradezu ein Beweis für die Annahme der Entwicklung, während im Gegenteil seine gelungenen Experimente einer Uebertragung durch Flöhe, bei welcher die Ratten sich einmal am 7. Tage, einmal nach 11 Tagen, einmal nach 10 Tagen infiziert zeigen, für eine mechanische Ueberimpfung spricht.

Das Experiment Nuttalls beweist aber andererseits, daß die gelingende Uebertragung nur ein Lotteriespiel ist, die infizierenden Läuse unter den 60 sind wenige Gewinne auf viele Niete. Es ist daher wohl theoretisch denkbar, daß man gelegentlich auch mit über 100 Läusen erfolglos experimentiert. Woran liegt das?

So sind meine Versuche, die Trypanosomiasis der Ratten zu übertragen, vorläufig sämtlich fehlgeschlagen. Es wird nicht ohne Interesse sein, die verschiedenen eingeschlagenen Wege zu besprechen.

1) Die mehrfach ausgeführte Uebertragung von Tryp. Lewisi (Manteuffel, Möllers) durch Nebeneinandersetzen nur durch ein Gitter getrennter Ratten, oder Heranhalten einer eingegitterten Ratte an eine andere, schließt Fehlerquellen durch mechanische Uebertragung oder durch Sekrete nicht aus. Insofern ist die Nuttallsche Versuchsanordnung allein einwandsfrei.

1) Läuse, die 2 Tage an einer stark infizierten Ratte gesogen hatten, wurden an gesunde Ratten gesetzt, und zwar auf eine Ratte 10, auf eine zweite 15, auf eine dritte 20 Läuse. Sämtliche Ratten waren noch nach 6 Wochen frei von Trypanosomen.

2) Von einer uninfizierten Ratte wurden sämtliche Läuse 26. Juni 09 auf eine mit *Trypanosoma Lewisi* frisch infizierte Ratte gesetzt (durch Ueberwandernlassen vom Kadaver), auf dieser 2 Tage belassen. 100 Läuse wurden von dieser Ratte am 28. Juni auf eine uninfizierte Ratte (I) gesetzt und auf dieser ebenfalls 2 Tage belassen.

Von diesen 100 Läusen konnten am 30. Juni nur 40 wiedergewonnen werden, welche auf eine neue uninfizierte Ratte (Ia) übergeführt wurden. Die auf Ratte I zurückgebliebenen Läuse (es waren jedenfalls nur noch wenige), wurden durch Abäthern der Ratte getötet.

Zweck des Versuchs war, festzustellen, ob etwa nach Analogie der Versuche Kleiner Ratte I frei bleiben, Ratte Ia infiziert werden würde.

Der Versuch mißlang, weder Ratte I noch Ia sind innerhalb 2 Monaten angegangen.

3) Ein völlig analoger Versuch, bei welchem auf die erste Ratte 150 Läuse, auf die zweite 35 Läuse kamen, ist ebenfalls mißlungen.

4) 3 infizierte Ratten, welche am 26. Juni mit Läusen besetzt waren, wurden am 16. Juli getötet (also nach einer Zeit, in welcher die angenommene Entwicklung sicher beendet sein mußte). Ihre sämtlichen Läuse wanderten auf eine uninfizierte Ratte über.

Resultat: Die Ratte ging innerhalb 6 Wochen der Beobachtung nicht an.

Hier sind sicher weit über 100 Läuse übergewandert, trotzdem erfolgte die Infektion nicht. Und ebenso blieben 2 weitere Versuche derselben Art erfolglos.

Hiernach ist es mir also vorläufig nicht gelungen, das Vorhandensein eines Entwicklungskreises durch erfolgreiche Uebertragung zu stützen. Da es aber Nuttall gelungen ist, kann es nur an besonderen Gründen liegen, welche das Zustandekommen der Infektion in den meisten Fällen verhindern.

Hier war in erster Linie an die niedrige Temperatur des Tierstalls und des Laboratoriums zu denken. Bei mehreren Versuchen wurden deshalb die mit Läusen besetzten Ratten in einem konstant auf 28° C erwärmten Raum gehalten. Der Erfolg blieb auch hier aus.

Mehrere äußere Beobachtungen lassen den Grund anderwärts suchen. Zunächst fanden sich mehrfach Ratten, die an einem Tage dicht mit Läusen besetzt waren, schon nach wenigen Tagen vollkommen läusefrei. Sie suchen die Läuse mit großer Sorgfalt ab, nach einiger Zeit finden sich aber doch wieder eine Anzahl von Läusen auf ihnen. Das spricht dafür, daß die Ratten zwar die großen Läuse absuchen können, daß ihnen aber die jungen entgehen. Auf diese Weise ist es sehr wohl möglich, daß im Versuch 1, 2 und 3 die großen Läuse abgesucht wurden (daß das eine Mal nur 40, das andere Mal nur 35 Läuse wiedergewonnen wurden, illustriert das Gesagte), bevor die Entwicklung der Trypanosomen in ihnen beendet war, so daß eine Infektion nicht erfolgen konnte.

Bei wilden Ratten, welche gelegentlich von Ausräucherungen mit Generatorgas gesammelt und auf Läuse untersucht wurden, fand sich, daß jüngere und halberwachsene Exemplare meist frei von Läusen waren, daß aber alte, säugende Weibchen dicht verlaust waren. Chronisch mit Trypanosomen infiziert waren etwa 30—40 Proz. der wilden Ratten Hamburgs.

Ich halte demnach für wahrscheinlich, daß die Uebertragung der Trypanosomiasis bei den Ratten in der frühesten Jugendzeit während des etwa 6 Wochen dauernden Sauggeschäfts einer chronisch infizierten Mutterratte auf die Jungen zustande kommt. Das Muttertier sammelt in dieser Zeit die Läuse nicht ab, diese haben infolgedessen Zeit, die Trypanosomen in sich zur Entwicklung zu bringen und infizieren in der bequemsten Weise die junge Rattenbrut, von der dann beim Heranwachsen ein Teil ausheilt, ein Teil chronisch infiziert bleibt.

Ob im späteren Lebensalter überhaupt noch häufig Uebertragungen stattfinden, erscheint zweifelhaft, die meisten älteren, trypanosomenfreien Ratten sind als Immuntiere zu betrachten.

Versuche in der vorgezeichneten Art sind zurzeit im Gange; über das Ergebnis wird später berichtet werden.

Schließlich ist auch zu bedenken, daß die Läuse, mit denen man experimentiert, immer von wilden Ratten stammen, welche zwar trypanosomenfrei, aber gleichzeitig auch immun sind. Es ist sehr wohl möglich, daß sie von der Immunität ihres Wirtes so oder so etwas übernommen haben, sodaß die Entwicklung der Trypanosomen, die sie von ihrem nächsten Wirt aufnehmen, nicht zu einem vollkommenen Abschluß kommt. Hier wird auch versucht werden, Läusestämme auf sicher nicht immunen, aber trypanosomenfreien Ratten zu ziehen und mit diesen zu experimentieren.

Zum Schluß sei noch ein Versuch, erbliche Uebertragung zu untersuchen, erwähnt, bei dem zahllose Nisse von einer Trypanosomenratte auf eine freie Ratte übertragen wurden. Auf letzterer entwickelten sich Läuse, aber infiziert wurde auch diese Ratte nicht.

Literatur.

- Baldrey, F. S. H., Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von *Trypanosoma Lewisii* in der Rattenlaus *Haematopinus spinulosus*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 15. 1909. p. 326.)
- Kleine, Positive Infektionsversuche mit *Trypanosoma Brucei* durch *Glossina palpalis*. (Deutsch. med. Wochenschr. 1909. No. 11. p. 469.)
- , Weitere Untersuchungen über die Aetiologie der Schlafkrankheit. (Deutsche med. Wochenschr. 1909. No. 29. p. 1257.)
- Koch, R., Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 47. p. 1865.)
- Manteufel, Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des europäischen Rückfallfiebers. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. 42. 1909. Beilage. p. 116*.)
- Möllers, B., Beitrag zur Epidemiologie der Trypanosomenkrankheiten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 62. 1909. p. 425.)
- Mayer und Keysselitz, Zur Frage der Entwicklung von *Trypanosoma Brucei* in *Glossina fusca*. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 12. 1908. p. 532.)
- Nuttall, G. H. F., The transmission of *Trypanosoma Lewisii* by fleas and lice. (Parasitology. I. 1908. p. 296.)
- Patton, W. S. and Strickland, C., A critical review of the relation of blood-sucking invertebrates to the life cycles of the Trypanosomes of vertebrates etc. (Parasitology. I. 1908. p. 322.)
- , A critical review of our present knowledge of the haemoflagellates and allied forms. (Parasitology. II. 1909. p. 156.)
- Strickland, C., On the supposed development of *Trypanosoma Lewisii* in lice and fleas etc. (Parasitology. II. 1909. p. 81.)
- Prowazek, S., Studien über Säugetiertrypanosomen. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 22. p. 351.)
- Rodenwaldt, Diskussionsbemerkung auf der 2. Tagung der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft. (Beih. z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. 1909. No. 6. p. 139.)
- Stuhlmann, Beiträge zur Kenntnis der Tsetsefliege. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 24. p. 301.)

Tafelerläuterung.

Sämtliche Präparate sind lufttrocken gemacht, mit Alkohol absolutus fixiert und mit Giemsa-Lösung gefärbt.

Die Zeichnungen sind gleichmäßig vermittelt des Abbe-Zeisschen Zeichenapparates mit Apochromat Homog. Immersion 2 mm und Kompensationsokular 12 auf die Tischplatte entworfen. Sie sind nicht schematisiert, feinere Details des Cytoplasmas sind aber fortgelassen, da es hier nur auf allgemeine Form, Lage der Kerne und Form des Geißelapparates ankam.

Tafel I (Fig. 1—12).

Fig. 1. Unverändertes Trypanosoma Lewisi.

Fig. 2. Trypanosoma Lewisi, dessen Kern etwas in die Mitte (nach hinten) gerückt und etwas gestreckt ist.

Fig. 3. Unverändertes Trypanosoma Lewisi; junge, aber aus einer Zweiteilung hervorgegangene Form.

Fig. 4. Beginnende Teilung des Hauptkerns.

Fig. 5. Vollendete Teilung des Hauptkerns.

Fig. 6. Dreiteilung des Hauptkerns.

Fig. 7—12. Lanzettformen.

Fig. 7. Lanzettformen.

Fig. 8. Lanzettform mit Abstoßung von Körnchen in das Lanzettende.

Fig. 9. Lanzettform mit 2 von dem hantelförmigen Blepharoplasten ausgehende Körnchenreihen.

Fig. 10 und 11. Lanzettformen mit Leiterkernen.

Fig. 12. Lanzettform mit 2 Hauptkernen, der vordere in einer erneuten Teilung begriffen.

Tafel II (Fig. 13—30).

Fig. 13. Geißellose Form (Ookinet?).

Fig. 14. Form mit kleinem Geißelanhang (Ookinet?).

Fig. 15. Form, welche das Vorbeiwandern des Blepharoplast am Hauptkern zeigt.

Fig. 16. Crithidiaform in Teilung.

Fig. 17. Crithidiaform nach vollendeter Teilung.

Fig. 18—25. Crithidiaformen verschiedener Gestalt.

Fig. 26 und 27. Leptomonasformen.

Fig. 28—30. Paare von Rosettensproßlingen.

Tafel III (Fig. 31—59).

Fig. 31—34. Rundliche, geißellose Formen.

Fig. 35—39. Kurze breite Formen mit dickem Geißelapparat.

Fig. 40—47. Geißelloße Formen (Ookineten?).

Fig. 48 und 49. Zweifelhafte Formen mit 2 Geißeln und mehrfachen Chromatinteilen (Kopulationsformen).

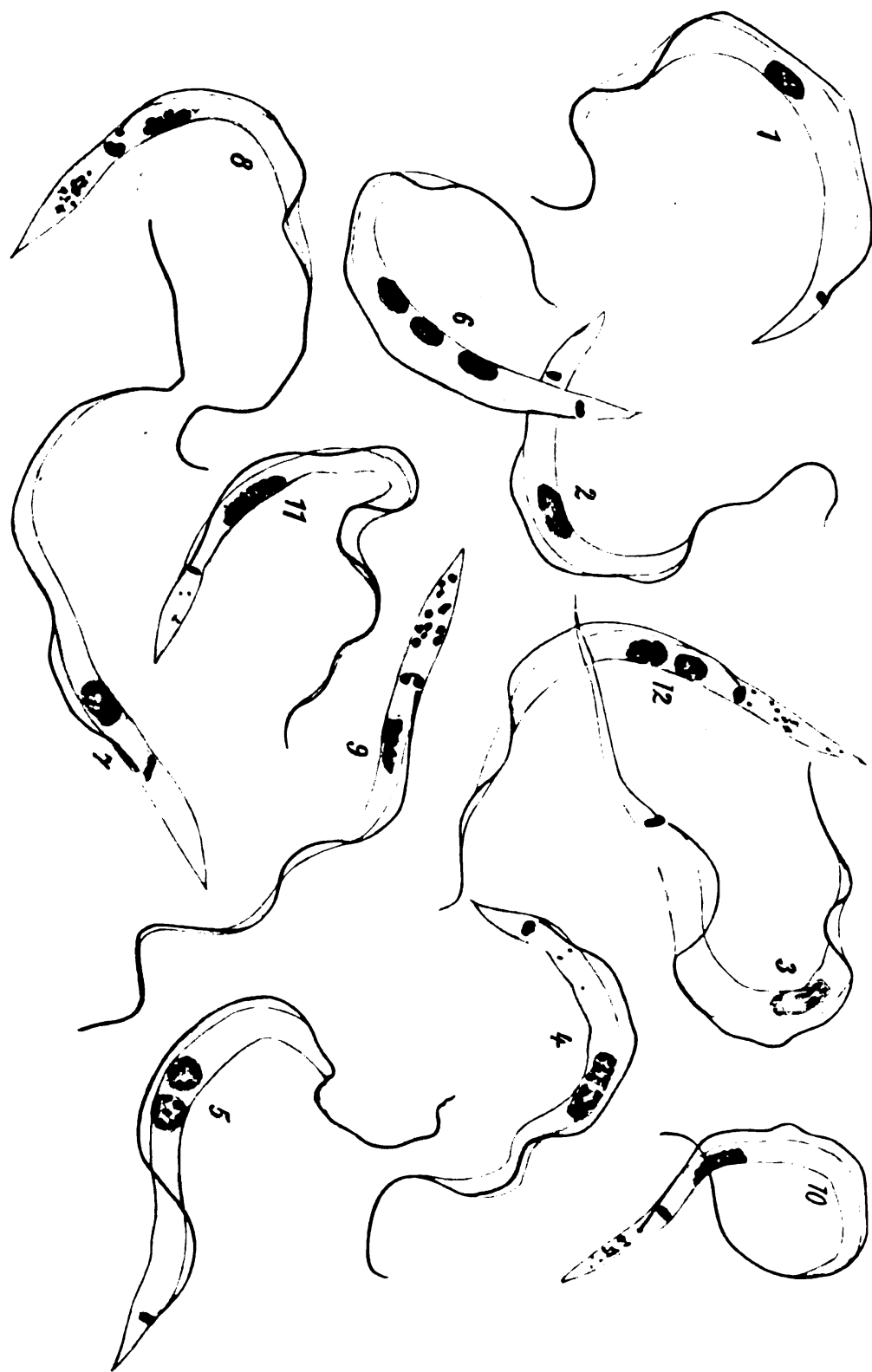
Fig. 50 und 51. Kurze Teilungsformen mit pinselartigem Geißelapparat.

Fig. 52—58. Crithidiaformen von abnehmender Größe.

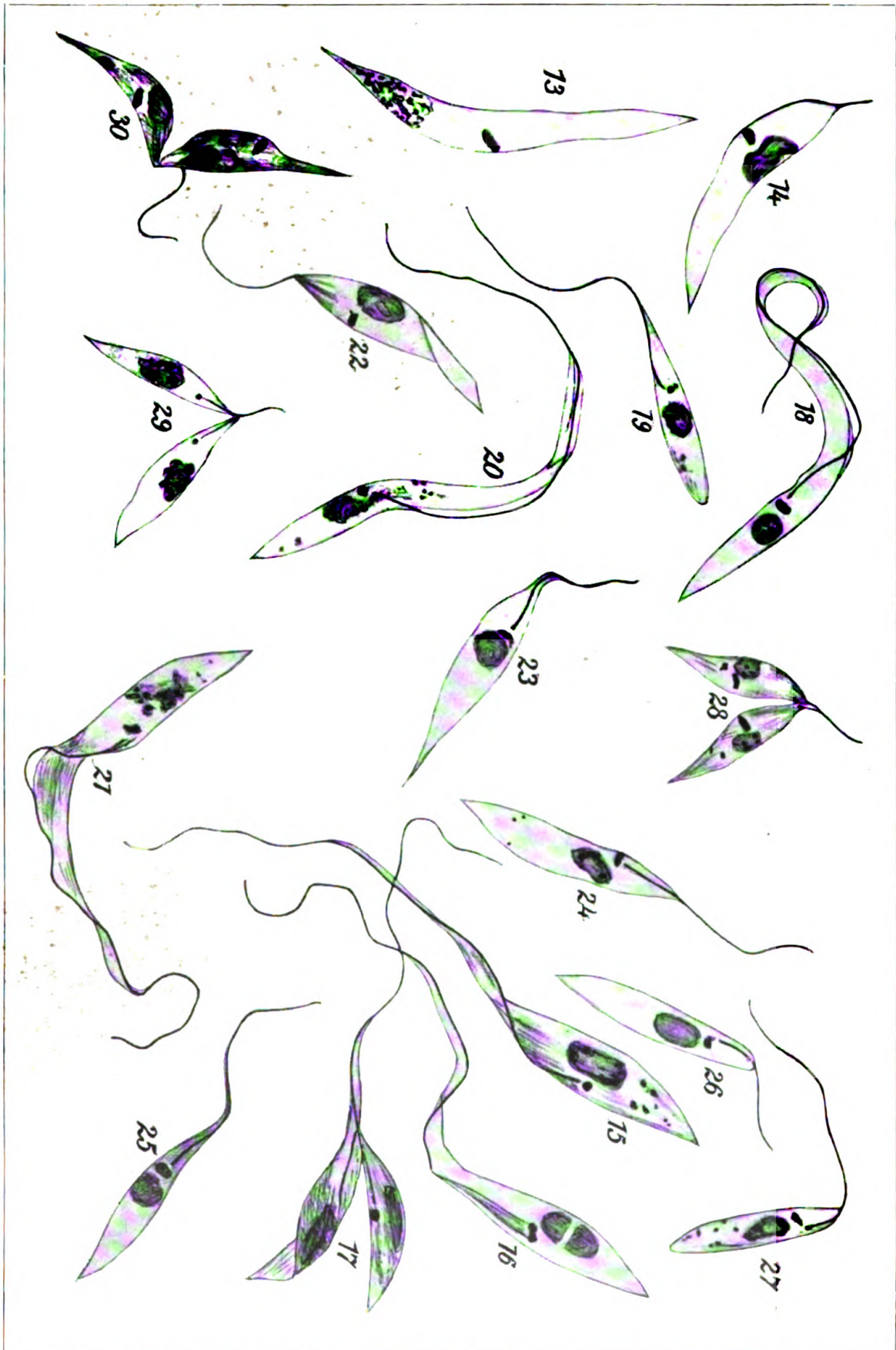
Fig. 59. Splitterartige Form (sporozoitenähnlich).

Fig. 60. Crithidiaform.





Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen von Bakterien in den Echinokokken und Cysticerken und ihre Bedeutung für das Absterben dieser Zooparasiten.

[Aus dem bakteriologischen Institut des städtischen Schlachthofes zu Berlin (Leitung: Obertierarzt J. Bongert).]

Von **Reinhold Mehlhose**, städtischem Tierarzt in Berlin.

Mit 1 Tafel und 1 Textfigur.

Einleitung.

Die bei unseren Schlachttieren und auch bei Menschen in der Muskulatur und in den inneren Organen vorkommenden Echinokokken und Finnen gelangen im Jugendzustande vom Intestinalrohr aus in den Körper. Es ist schon frühzeitig aufgefallen, daß diese Entozoen ihre volle Entwicklung oft nicht erreichen, sondern im jugendlichen Zustande absterben und regressiven Veränderungen anheimfallen. Man beobachtet aber auch, daß vollkommen entwickelte Echinokokken und Finnen später zugrunde gehen und ihr Inhalt verkäst und verkalkt. Von den Rinderfinnen speziell weiß man, daß ihre Lebensdauer im Gegensatz zu derjenigen der Trichinen und Echinokokken eine beschränkte ist. Die durch die praktische Fleischschau festgestellte Tatsache, daß bei älteren Rindern über 5 Jahren der *Cysticercus inermis* nur selten gefunden wird, kann nur dadurch ihre Erklärung finden, daß die Einwanderung der Finnenbrut vom Darne aus nur im jugendlichen Alter des Wirtstieres stattfindet und ermöglicht ist, solange die Gewebe, besonders das interstitielle Bindegewebe, noch nicht erstrafft sind, und daß außerdem die Finnen stets nach einer gewissen Zeit absterben, resorbiert werden und vollkommen verschwinden. Experimentell ist dieses Verschwinden der Rinderfinnen in der Muskulatur eine gewisse Zeit nach der Invasion von Ostertag¹⁾ nachgewiesen worden.

Als gewöhnliche Ursache des Absterbens und der regressiven Metamorphosen der Echinokokken und Finnen hat man bisher den Druck der Gewebe angesehen. Die gelegentlich zu beobachtende Vereiterung der Finnen erklärte man durch Verschleppung von Eiterbakterien vom Darm aus mit der eingewanderten Wurmbrut oder durch Infektion vom Blute aus, indem die in demselben enthaltenen Bakterien in die Finnenbälge ausgeschieden werden, wie dieses Fränkel experimentell festgestellt zu haben glaubt (vergl. w. u. p. 51).

Neuere Untersuchungen des verkästen und flüssigen Inhaltes der Echinokokken und Cysticerken von Garino²⁾ und Griglio³⁾ (s. w. u. p. 48) berechtigten darüber nachzudenken und Untersuchungen anzustellen, ob vielleicht allgemein die Anwesenheit von Bakterien in diesen parasitären Gebilden die Veranlassung zu ihrem Absterben und zu den

1) Ostertag, Beitrag zur Frage der Entwicklung der Rinderfinne und Selbstheilung der Rinderfinnenkrankheit. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 8. p. 1.)

2) Garino, Ueber Degeneration der Echinokokkenblasen. (Bolletino dell' Associazione sanit. 1900. p. 87.)

3) Griglio, E., Il contenuto bacterico delle cisti da echinococco normale. (La Clinica veterinaria. Anno 29.)

regressiven Veränderungen ist. Ich machte es mir daher zur Aufgabe, zunächst die in Vereiterung und in Verkäsung begriffenen Zooparasiten (Echinokokken und Cysticerken) bakteriologisch zu untersuchen, und wurde dann später auf Grund der Ergebnisse dieser Untersuchungen bewogen, auch die Flüssigkeiten intakter Cysticerken und Echinokokkenblasen bakteriologisch und auch chemisch einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

Herr Geheimer Regierungsrat Prof. Dr. Ostertag gab mir die Anregung zu dieser Arbeit, wofür ich ihm pflichtschuldigst danke. Die Untersuchungen führte ich unter Aufsicht und mit Unterstützung des Herrn Obertierarztes J. Bongert in dem diesem unterstellten Laboratorium des städtischen Schlachthofes zu Berlin aus. Diesem insbesondere, wie allen Herren Kollegen, die mir freundlichst geeignetes Material für meine Untersuchungen zukommen ließen, spreche ich an dieser Stelle ebenfalls meinen herzlichsten Dank aus. Dank schulde ich auch Herrn Dr. R. v. d. Heide, welcher im tierphysiologischen Institut der Königl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin bereitwilligst eine vollständige chemische Analyse der Cysticerkenflüssigkeit ausführte und mir so wertvolles Material für meine Arbeit lieferte.

Literatur.

Ueber das Absterben der in den inneren Organen und in der Muskulatur im Finnenzustande vorkommenden Entozoen sind in der Literatur viele Angaben enthalten; über die wahre Ursache dieses Absterbens gehen die Ansichten der Autoren, wie bereits angedeutet, auseinander.

Rudolf Leuckart¹⁾ bezeichnet es als ein gewöhnliches Ereignis, daß der Echinococcus auf früherer oder späterer Entwicklungsstufe abstirbt und der Verödung anheimfällt. Die Ursachen dieser Erscheinung erblickt Leuckart in krankhaften Veränderungen der dem Blasenkörper aufliegenden Zellschicht der Cystenwand (Organhaut). Physiologisch einer serösen Auskleidung nicht unähnlich, beginnt diese Zellschicht sich zu trüben und aufzulockern. Oftmals verwandelt sie sich in eine rahmartige oder käsigte Masse, die in immer größerer Menge um den Blasenwurm sich anhäuft. Dieser letztere scheint anfangs kaum verändert. Erst bei genauerer Untersuchung überzeugt man sich, daß die Parenchymschicht verwischt und verfettet ist, auch stellenweise von der Cuticularhaut sich abgetrennt hat, und daß die Köpfchen mit mehr oder minder verändertem Aussehen in dem Blasenwasser herumschwimmen. Später sammelt sich diese Flüssigkeit im Umkreise des Blasenwurms an und nimmt eine dicke, leim- oder honigartige Beschaffenheit an. Die Echinokokkenblase fällt infolge des Wasserverlustes zusammen, sie schrumpft immer stärker, verliert das früher gallertartige Aussehen und wird zu einer kautschukartigen Substanz, die schließlich in einen formlosen Detritus auseinanderfällt. Es ist natürlich, daß diese Parasitengeschwulst sich in demselben Verhältnis verkleinert, wie die Echinokokkenflüssigkeit resorbiert wird. Dies geschieht oftmals in einem solchem Grade, daß zuletzt nur ein kleiner Knoten zurückbleibt, wo früher ein ansehnlicher Echinococcus gesessen hatte.

Mitunter wird bei diesen Veränderungen auch eine große Menge von Kalk, besonders kohlensaurer Kalk, in die Granulationsschicht abgelagert,

1) Leuckart, Rudolf, Die Parasiten des Menschen. 1879—1886. Bd. 1. p. 823.

so daß sich dieselbe als zusammenhängende Masse aus der Substanz des umgebenden Organs herauschälen läßt.

Berthold¹⁾ untersuchte die Kalkschale eines solchen Echinococcus aus der Lunge eines alten Dromedars und erkannte nach der Eröffnung des Parasiten zwei übereinanderliegende Schichten, von denen die äußere festere vorzugsweise aus phosphorsaurem, die innere aus kohlsaurem Kalk bestand. Unter der letzteren zeigten sich wieder massige Kalkablagerungen von deutlich kristallinischem Gefüge.

Die hier geschilderten Veränderungen sind schon von älteren Anatomen (vergl. Küchenmeister²⁾) beobachtet und beschrieben worden, wenn auch die wahre Natur und die Ursache dieser Veränderung nicht erkannt worden sind. Von der Ansicht befangen, daß die Echinokokken zu den Geschwülsten gehörten, glaubten die Autoren, den Uebergang der Hydatiden bald in Tuberkel, bald auch in Atherome, Steatome und in Meliceriole beweisen zu können. Selbst die Entdeckung, daß die Echinokokken Tiere seien und den Blasenwürmern zuzurechnen sind, wie die Finnen, hat diese irrige Ansicht nicht vollkommen zu beseitigen vermocht. Noch im Jahre 1819 hat man den Versuch gemacht, nicht nur die Tuberkelablagerungen, sondern auch Skirren und andere Pseudoplasmen von ihnen herzuleiten. Nur widerstrebend und sehr allmählich hat sich die ärztliche Welt der Ansicht von der tierischen Natur der Echinokokken angeschlossen und deren Berechtigung anerkannt. Selbst dann, als das geschehen war, als niemand mehr zweifelte, daß der Echinococcus, speziell der hydatidöse, in Wahrheit ein Tier und die Larve des Hundebandwurms enthielt, selbst dann rechnete man noch die multi-
lokuläre Form dieses Parasiten zu den Geschwülsten.

Aehnlich wie Leuckart schildert A. Heller³⁾ den Vorgang des Absterbens der Echinokokken. Nach diesem Autor hat der Echinococcus in der Regel ein sehr langsames Wachstum und scheint sehr lange am Leben zu bleiben. Nach Jahrzehnten haben die Proliferationsprodukte oft noch ein gutes und gesundes Aussehen, häufiger allerdings stellen sich im Laufe der Jahre Veränderungen ein, welche das Absterben zur Folge haben. Die Membran erscheint dann anfangs trübe, später verschwindet der flüssige Inhalt allmählich, und die Blase kann ganz kollabieren; sie liegt dann als vielfach gefaltete Membran in der Bindegewebscyste. Bald findet dann eine Ablagerung von Fett und Kalksalzen in die Blasenwand und in die Umgebung derselben statt, und zwar oft in großer Menge. Doch widersteht die Membran selbst sehr lange einer völligen Zerstörung. Die Tochterblasen unterliegen einer gleichen Veränderung, doch gehen ihre Membranen weit früher völlig unter als die der Mutterblasen. Die Skoleces sterben schon früher ab, verlieren ihre Haken und zerfallen entweder ganz oder bilden, mit Kalk imprägniert, ein Sediment in der etwa noch vorhandenen Flüssigkeit. Bei weiterer Rückbildung finden sich, in dem geschrumpften, verfetteten und mit Kalk infiltrierten Cysteninhalte eingelagert, entweder in der Form noch erhaltene Skoleces oder auch nur einzelne Häkchen und Hakenkränze, daneben Cholestearinkristalle oft in großer Menge. In dem Leberechinococcus beobachtet man Einlagerung von Hämatoidin. Gewöhnlich schrumpft zugleich mit solcher Metamorphose des Echinococcus auch seine Bindegewebskapsel. Ihre Wände verdicken sich und werden bisweilen mit Kalksalzen imprägniert. Schließlich kann der ganze Echinococcus in ein einziges mehr oder weniger großes Kalkkonkrement sich umwandeln.

1) Berthold zit. nach R. Leuckart: Die Parasiten des Menschen. Bd. 1. p. 823.

2) Küchenmeister, Zusammenstellungen in dem deutschen Arch. f. Geschichte d. Medizin. Bd. 2 und 3.

3) Heller zit. nach W. Ziemssen: Spezielle Pathologie und Therapie der Invasionskrankheiten und der Zoonosen. 2. Aufl. Leipzig 1876. p. 324.

Eine große Neigung zum ulcerösen Zerfall zeigt nach Heller (l. c.) der multilokuläre Echinococcus. Gewöhnlich finden sich im Zentrum, seltener mehr peripherisch, eine oder auch mehrere Jauchehöhlen mit unregelmäßig zerklüfteter Wand und einem bröckeligen, stark ikterischen, bisweilen dunkelgrünen Inhalt.

Guillebeau¹⁾ untersuchte histologisch den Echinococcus multilocularis aus der Leber einer Kuh und beschreibt eine den Echinococcusbläschen anliegende, stellenweise nekrotische Gewebszone, die aus Riesenzellen mit peripher gelagerten Kernen und radiär zu den Bläschen gestellten großen Spindelzellen besteht. Auf diese großen Zellen folgen epitheloide, darauf Rundzellen. Ein Bindegewebsnetz vereinigt mehrere Bläschen zu einem Konglomerat, welches später dem Untergange durch Verkäsung anheimfällt und jenen, leicht heraus-schälbaren, zähbröckeligen Inhalt der Bindegewebslücken bildet. Diese Riesenzellen- und Spindelzellenschicht ist nach den Untersuchungen von Lichtenheld²⁾ auch dem sterilen Echinococcus eigentümlich.

Nach Ostertag³⁾ können die Hülswürmer in jedem Entwicklungsstadium zugrunde gehen. Nach seinen Beobachtungen kommen hierbei zwei Arten des Unterganges in Betracht:

- 1) Koagulationsnekrose der Echinokokkenhaut,
- 2) Entzündung der Organhaut.

Bei der ersten Art des Absterbens der Echinokokken findet man Schrumpfung und Trübung der Echinokokkenhaut, später Verkäsung und Verkalkung; bei der zweiten dagegen fibrinöses und in seltenen Fällen auch blutiges Exsudat zwischen Organ- und Echinokokkenhaut. Gleichzeitig beginnt die Echinokokkenflüssigkeit infolge Resorption zu verschwinden. Die Organhaut ist bei der Koagulationsnekrose der Echinokokkenhaut intakt und verändert sich auch beim Tode des Parasiten durch Entzündung in ihrem äußeren Verhalten allgemein wenig. Nur bei Schafen beobachtet man mitunter proliferierende Entzündungen und Verkalkung der Organhäute, nachdem die Parasiten abgestorben sind. Die zugrunde gegangenen Echinokokken stellen mithin Cysten vor, die mit gelbem, feucht- oder trocken-käsigem oder eitrigem, und schließlich mit teilweise oder ganz verkalktem Inhalt gefüllt sind. Hin und wieder findet man auch den käsigen Inhalt abgestorbener Echinokokken grünlich gefärbt.

Auch Braun⁴⁾ gibt an, daß die Echinokokken in verschiedenen Entwicklungsstadien absterben, verkäsen, verkalken und schließlich resorbiert werden können. Die Ursache hierfür liegt entweder in Erkrankungen des Hülswurmes selbst oder in Entzündungen seiner Bindegewebskapsel. Das Auffinden der sehr widerstandsfähigen Cuticula resp. der Häkchen der Skoleces gibt sicheren Aufschluß über die Natur solcher Bildungen. Eigentümlich für den multilokulären Echinococcus des Menschen ist der in verschiedenen Stadien eintretende Zerfall, wie dies schon Heller (s. v. p.) festgestellt hat. Inmitten des Parasiten entsteht eine oft an Größe zunehmende Höhle, die mit eiterähnlicher, bräunlicher oder grünbrauner, fadenziehender Flüssigkeit gefüllt ist; in

1) Guillebeau, A., Zur Histologie des multilokulären Echinococcus. (Virch. Arch. Bd. 119. 1890. p. 108.)

2) Lichtenheld, Georg, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf, Pferd. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. p. 546, 651; Bd. 37. p. 64.)

3) Ostertag, R., Handbuch der Fleischschau. 1904. p. 472.

4) Braun, Die Parasiten des Menschen. 3. Aufl. 1903. p. 236.

ihr findet man Fetzen der Kavernenwand, Kalkkörperchen, Echinococcus-Bläschen, auch Skoleces und Häkchen, sowie Fetttropfen, Hämatoidin-, Margarin-, Cholestearinkristalle und Kalkkonkretionen. Die direkte Ursache des Absterbens der Echinokokken gibt Braun nicht an.

Stevens¹⁾ ist der Ansicht, daß die ursächlichen Momente für das Absterben der Echinokokken in einer allmählich zunehmenden Sklerose des umgebenden Gewebes zu suchen sind. Die Blutzufuhr soll behindert, zum Teil direkt abgeschnitten werden, wodurch eine Unterernährung der Cyste eintritt. Stevens glaubt dies folgern zu müssen aus dem Umstande, daß abgestorbene Cysten meist an der Peripherie des Organs sitzen. Die Cyste ist meist nicht verkleinert; bei Lungenechinokokken befindet sich die Cyste oft im Degenerationsstadium, wenn die umgebende Cyste dick und derb ist. Bei kleinen degenerierten Lungencysten zeigt das Lungengewebe eine beträchtliche Verdickung.

Von bakteriologischen Untersuchungen des Inhaltes abgestorbener Echinokokken seien folgende erwähnt:

Galliard²⁾ berichtete in der Medizinischen Gesellschaft der Hospitäler in Paris über einen Fall von Leber-Echinococcus, welcher durch Pneumokokken infiziert war. Der betreffende Patient war unter den Erscheinungen des Darmverschlusses aufgenommen worden, die aber bald beseitigt wurden. Da die Leber groß blieb, ist eine Punktion gemacht und gallefreier Eiter aspiriert worden, in welchem der Pneumococcus in Reinkultur gefunden wurde. Es wurde hierauf eingeschnitten, und dabei zeigte es sich, daß es sich um einen Echinococcus handelte, der durch Pneumokokken infiziert war.

Hühn und Joanović³⁾ beschreiben einen Fall von Vereiterung einer Echinokokkencyste durch Typhusbacillen nach überstandenen Abdominaltyphus.

Winternitz⁴⁾ führt die Vereiterung des Cysteninhaltes nicht auf den Einfluß der Galle zurück, sondern auf eine bakterielle Infektion. Neben Streptokokken fand dieser Autor im Inhalte eines Leber-Echinococcus einen kleinen Coccus, den er *Diplococcus parvus intestinalis septicus* nannte und mit dem er die Vereiterung in ursächliche Verbindung brachte.

Nach mündlicher Mitteilung von Bongert können auch in den verkästen Echinokokken tuberkulöser Rinder gelegentlich Tuberkelbacillen vorkommen, was jedoch nicht weiter auffallend sein könne.

Weiterhin sind die bakteriologischen Untersuchungen der Echinokokkenflüssigkeit von Vinas⁵⁾ zu erwähnen. Dieser Autor fand, daß

1) Stevens, J. W. Mitchell: The spontaneous cure of hydatid cyste. (Brit. med. Journ. May 11. 1901 [zit. nach Lubarsch-Ostertag: Ergebnisse der allgem. Pathol. 1903. p. 205].)

2) Galliard, Zur Vereiterung von Echinokokken. (Deutsche Medizinalztg. 1895. No. 100.)

3) Hühn, K. und Joanović, M., Ein Fall von Vereiterung einer Echinococcuscyste durch Typhusbacillen nach überstandenen Abdominaltyphus. (Liecnicki viestnik. Bd. 14. Heft 2. 1902 [zit. nach Ostertag-Lubarsch: Ergebnisse d. allgem. Pathol. Bd. 2. p. 205].)

4) Winternitz, A., Ueber die Infektionen und Vereiterung der Leberechinococcuscysten. (Orvosi Hetilap. 1901 No. 1. [zit. nach Ostertag-Lubarsch: Ergebn. d. allgem. Pathol. Bd. 2. 1903. p. 205].)

5) Vinas, Bacteriología de los quistos hidatidicos. (Rev. de la soc. méd. Argent. 1900. Juli [zit. nach Ostertag-Lubarsch: Ergebn. d. allgem. Pathol. Bd. 2. 1903. p. 205].)

die Echinokokkenflüssigkeit keimfrei sein kann, während in der Membrana pericystica sich Keime vorfanden. Besonders bemerkenswert ist aber seine Feststellung, daß der makroskopisch anscheinend unveränderte Cysteninhalt Keime enthalten kann. Die Flüssigkeit erwies sich als ein guter Nährboden für Staphylokokken, Streptokokken, Coli- und Typhusbacillen.

Eine besondere Beachtung verdienen die bakteriologischen Untersuchungen verkäster Echinokokken von Garino und Griglio.

Garino (l. c.) hat den Inhalt verkäster und verkalkter Echinokokken auf die Gegenwart von Mikroorganismen untersucht. Er entnahm das Material unter streng aseptischen Kautelen und erhielt bei der Aussaat in den meisten Fällen Reinkulturen eines kleinen Coccus mit folgenden Eigenschaften: Der Coccus lag einzeln oder zu zweien. Er färbte sich gut mit basischen Anilinfarben und widerstand der Entfärbung mit Alkohol bei der Gramschen Färbung nur schwach. Er zeigte sich fakultativ anaërob und bildete in Bouillon einen trüben Bodensatz, der beim Schütteln spiralig aufwirbelte. In Agarstichkulturen wuchs er im Verlauf des Stichkanals ohne besondere Kennzeichen. Auf der Oberfläche von Agaragar bildete er einen zarten, leicht abhebbaren Belag. Er verflüssigte Gelatine nicht, auf der er im übrigen gut wuchs. Auf Plattenkulturen bildete er rundliche, weiße, fein granuliert Kolonien mit glatten Rändern. Auf alkalisch gemachten Kartoffeln wuchs der Coccus in Gestalt eines leichten Belages von schmutzigweißer Farbe. Subkutane Impfungen mit dem Coccus blieben bei Kaninchen und Meerschweinchen erfolglos mit einer einzigen Ausnahme. Bei einem Meerschweinchen entstand an der Injektionsstelle ein Abszeß. Derselbe enthielt gelblichen, geruchlosen Eiter und die erwähnten Kokken. In der aus Echinokokkenblasen entnommenen Flüssigkeit wuchs der Coccus sehr üppig unter Trübung derselben.

In betreff der Frage, wie der genannte Coccus in die Echinokokkenblase hineingelangt sei, konnte Garino keine bestimmten Angaben machen. Er schließt sich der Ansicht an, daß vielleicht bei der Invasion des Parasiten vom Darm her die Keime mit verschleppt werden.

Griglio (l. c.) untersuchte bakteriologisch 42 Echinokokkencysten von Schlachttieren sofort nach der Abschachtung derselben. In 35 Cysten hat Griglio Keime vorgefunden. Diese konnten in der Mehrzahl der Fälle spezifiziert werden. Nur selten fand sich eine Bakterienart in Reinkultur vor. Am häufigsten fand Griglio den *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus*, sodann Streptokokken und unter diesen meistens eine nicht pathogene Art, die sehr viel Ähnlichkeit hatte mit dem *Streptococcus brevis*, dann Sarcinen, den *Bac. proteus vulgaris*, den *Bac. proteus mesentericus*, das *Bact. coli* und endlich den *Bac. pyocyaneus*; letzterer wurde in 3 Cysten desselben Tieres angetroffen.

Von den 42 auf Bakteriengehalt geprüften Cysten waren 21 Omphalocysten und 9 proliferierend; 12 wurden von diesem Gesichtspunkte aus nicht spezifiziert. Die Keime fanden sich sowohl in den ersteren, wie in den letzteren insofern, als von den 21 Omphalocysten 15 Keime enthielten und 6 steril waren, und unter den 9 proliferierenden sich 8 keimhaltig und 1 steril erwiesen.

Was nun das Absterben der verschiedenen *Cysticerken-species* anbelangt, so erwähnt Rudolf Leuckart¹⁾ in seinen

1) Leuckart, Rudolf, zit. nach Wiegmanns Archiv f. Naturgeschichte. Bd. 1. 1848.

„Beobachtungen und Reflexionen über die Naturgeschichte der Blasenwürmer“ das Vorkommen eines im Zerfall begriffenen *Cysticercus tenuicollis* in den Peritonealfalten an der Milz eines Mandrils. Von der Flüssigkeit dieses Parasiten nimmt Leuckart an, daß sie zerstörend auf das Parenchym des in ihr flottierenden Parasitenkörpers eingewirkt hat, was teils aus dem Zustande der Mazeration an dessen hinterem Rande zu ersehen, teils aber auch daraus zu entnehmen war, daß am Boden der Blase eine Menge jener scheibenförmigen Kalkkonkremente und hier und da auch das Rudiment einer Faser sich vorfand, die nur aus dem Parasitenkörper stammen konnte. Hierdurch glaubt Leuckart den Nachweis geliefert zu haben, daß der Parasit zum Teil schon durch die Einwirkung der Flüssigkeit aufgelöst sein mußte. Was das Wirksame in der Flüssigkeit ist, hat Leuckart nicht angegeben.

Küchenmeister¹⁾ schließt sich den Leuckartschen Ausführungen nicht an. Er ist vielmehr der Ansicht, daß das Absterben des Parasiten nicht durch Trennung der Organhaut von der darunterliegenden Tiermembran durch die Flüssigkeit bedingt wird, sondern dadurch zustande kommt, daß sich die Gebilde enorm ausdehnen.

Im Degenerationsstadium unterliegen nach Heller²⁾ die Cysticerken rückgängigen Metamorphosen. Sie erscheinen im Anfang etwas welk, ihr Inhalt wird trübe, die Blase weniger durchscheinend, bisweilen ist die Innenfläche der Kapselschicht eiterig beschlagen, später schrumpfen sie ein und verfetten; die Flüssigkeit kommt dann zur Aufsaugung, und es lagern sich Kalksalze sowohl in dem flüssigen Inhalt der Cyste, als auch in der schwieligen, geschrumpften Kapsel ab. Schließlich tritt totale Verkalkung ein; an Stelle der Parasiten finden sich kleine, derbe Kalkkonkremente. Küchenmeister und Zürn³⁾ äußern sich über abgestorbene Hautcysticerken dahin, daß sie kleiner als die lebenden wären. Sie zeichneten sich diesen gegenüber durch Härte und Festigkeit aus. Man konnte die Parasitennatur der Hautknötchen erst nach der Exstirpation mit Sicherheit erkennen. Man findet inmitten des kalkig-käsigen Breies der geschrumpften Cysten abgestorbene, vollkommen entwickelte Cysticerken mit vorgestrecktem Hals und Kopf oder auch in der Nachbarschaft abgeworfene Haken derselben. Sind die Finnen vor der Entwicklung des Skolex abgestorben, so findet man wenigstens zusammengefallene Bläschen, miliare Knötchen darstellend. Bei der mikroskopischen Untersuchung solcher Gebilde bedient man sich vorteilhaft zur Auflösung des Fettdetritus des Chloroforms, zur Auflösung des Kalkes der Salzsäure.

Nach Kallmann⁴⁾ scheint die Lebensdauer der Finnen im allgemeinen keine lange zu sein, denn in der Regel findet man bei noch jungen Rindern neben frischen schon verkalkte und im käsigen Zerfall begriffene Finnen. Die Zerfallsprodukte zeigen gewöhnlich ein gelbgrünes Aussehen, welches sich auch in Spirituspräparaten gut erhält. In 2 Fällen konnte Kallmann feststellen, daß zwischen den ziemlich trockenen, verkästen Zerfallsprodukten noch der vollkommen intakte,

1) Küchenmeister, F., Ueber Cestoden im allgemeinen und die des Menschen insbesondere. Zittau 1853. p. 34 u. 35.

2) Heller, Invasionskrankheiten „Cysticercus“. 2. Aufl. 1876. p. 363.

3) Küchenmeister, F. und Zürn, F. H., Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. p. 118.

4) Kallmann, D., Das Vorkommen der Rinderfinne. (Wochenschr. f. Tierheilkunde u. Viehzucht von Th. Adam. Jahrg. 32. No. 52. p. 457.)

ausgebildete Skolex mit ca. $1\frac{1}{2}$ mm langem Halsansatz vorhanden war. Es sei dies ein Beweis dafür, daß das Absterben der Finnen nicht mit dem Tode des Skolex zu beginnen brauche, sondern erst Zerfall der Tiermembran, Eindickung des Blaseninhaltes und zuletzt Tod des Skolex erfolgen könne. Da der Hakenkranz bei der Rinderfinne fehle, sei nach ihrem Untergange, wenn nicht gerade der Skolex erhalten ist, mitunter mikroskopisch nichts nachzuweisen, was mit positiver Sicherheit für die Parasitennatur spreche. Als charakteristisch für die Parasitennatur dieser abgestorbenen oder verkästen Herde sieht Kallmann die glattwandige Hülle und ihren grünlich gefärbten Inhalt an.

Morot¹⁾, städtischer Tierarzt in Troys, bespricht an der Hand seiner Beobachtungen im Schlachthofe die Entartung der Schweinefinne. Dieselbe beginnt an der äußeren Haut und endet am Skolex. Morot unterscheidet vier verschiedene Stadien des Unterganges der Schweinefinne:

a) Erster Grad: An der Finne hat sich nur die äußere Haut verändert, letztere ist nicht mehr überall durchsichtig, sondern weist eine wechselnde Menge trüber, verkäster Stellen auf. Im übrigen ist im Knötchen nichts verändert. Der flüssige Bläscheninhalt ist klar und durchsichtig, und der Skolex zeigt einen prächtigen Hakenkranz mit 4 schönen Saugnäpfen.

b) Zweiter Grad: Das Innere der beiden Finnenhäute ist ganz mit käsigem Stoffe angefüllt. Der Skolex, in Entartung begriffen, läßt seinen Hakenkranz noch intakt erkennen, die 4 Saugnäpfe aber fehlen.

c) Im dritten Grade der Degeneration zeigt das Finnenknötchen bedeutende Veränderungen und ist als solches nur durch die mikroskopische Untersuchung noch zu erkennen. Man bemerkt bisweilen Kalkkörperchen und stets Häkchen. Letztere zeigen die Besonderheit, daß sie zwar mehr oder weniger gut erhalten, aber nicht mehr in regelmäßiger Zahl und Anordnung, sondern unregelmäßig und in wechselnder Zahl sich vorfinden, bald nur zu 1, 2 und 3, bald aber noch zu 10, 15 und 20 und mehr Exemplaren.

d) Im 4. Stadium des Zerfalles bemerkt man lediglich eine käsig Masse, ohne jegliche Spur von Haken und anderen geformten Elementen. Bei einem und demselben Schweine kann man vollständig normale und teilweise oder ganz degenerierte Finnen vorfinden. Indessen ist die einfache Form der Finnigkeit, bei welcher nur lebende oder nur abgestorbene Finnen sich vorfinden, die häufigere. Außer verkästen Finnen beobachtete Morot auch vereiterte, mit grünlichem, rahmartigem Eiter angefüllte Gebilde.

Das Absterben erfolgt, wie Morot hervorhebt, nicht nur nach der vollkommenen Entwicklung, sondern auch schon in den ersten Stadien derselben. Morot regt zu weiterem Studium über das Absterben der Finnen an, denn er glaubt, daß man auf diese Weise vielleicht Mittel und Wege findet, in den Körper eingedrungene Finnen unschädlich zu machen. In ähnlicher Weise, wie Morot bei der Schweinefinne, hat Kitt²⁾ bei der Rinderfinne verschiedene Stadien des Absterbens und des Zerfalls festgestellt: Trübung des flüssigen Inhaltes, Eindickung und gelbgrünliche Verfärbung des ursprünglich weißen, glänzenden Cysti-

1) Morot, Einige Beobachtungen über die Entartung der Schweinefinne. (Journal de méd. vét. Oct. 1890.)

2) Kitt, Bakterienkunde. 1893. p. 53.

cerkenkörpers, zuletzt Umwandlung der ganzen Finne in eine mörtelartige, bröckelige Masse von gelblicher, bisweilen grünlicher Farbe. Für die Erkennung der Finnennatur des im vorgeschrittenen Degenerationsstadium befindlichen Parasitenknötchens gewährt der mikroskopische Nachweis der Kalkkörperchen einen sicheren Anhaltspunkt (Ostertag, Hertwig). Da bei 4 Wochen alten Finnen diese Gebilde erst in zählbarer Form, etwa 20, zu sehen sind, so kann eine kleine bis hanfkorn-große, verödete Finne mit solcher Zahl Kalkkörperchen auf eine vor 3—4 Wochen erfolgte Invasion zurückdatiert werden. Verödete Finnen ohne Kalkkörperchen müssen jünger sein (14 Tage bis 3 Wochen), Finnen mit sehr viel Kalkkörperchen älter, zumal, wenn der Balg sehr dick und der Inhalt verkalkt ist (Hertwig).

Auf die große Zahl der in der tierärztlichen Fachliteratur enthaltenen Angaben über das Absterben der Rinder- und Schweinefinnen weiter einzugehen, erübrigt sich, da alle diese Autoren das Absterben und die regressiven Veränderungen dieser Parasiten vom pathologisch-anatomischen Standpunkte aus untersucht haben. Man gibt allgemein an, daß die Schweine- und Rinderfinnen durch Verkäsung und Verkalkung zugrunde gehen, und hat diese Veränderungen, welche den Untergang der Parasiten zur Folge haben sollen, mehr als Metaplasien aufgefaßt und nicht im entferntesten daran gedacht, daß Bakterien bei dem Untergange der Finnen wirksam seien und die eigentliche Ursache der Verkäsung und Verkalkung sein könnten.

Ostertag¹⁾ kommt der Sache schon etwas näher und äußert eine Ansicht über die Ursache des gelegentlichen Absterbens der Finnen beim Rinde. Er beschreibt von der Norm abweichende Finnenfunde, denen eine reaktive Entzündung des den Parasiten umgebenden Finnenbalges zugrunde liegt. Die Finne selbst kann dabei intakt oder durch fibrinöses Exsudat mit dem Balge verklebt sein. Dieser Entzündungsprozeß tritt bei im übrigen normal entwickelten Finnen während der verschiedenen Entwicklungsstadien auf und führt den Tod des Parasiten herbei. Die wirkliche Ursache dieser Entzündung in der Umgebung der Finne, die zum Absterben derselben führt, gibt Ostertag nicht an. Er hält es aber für wahrscheinlich, daß die gelegentliche Beobachtung der Vereiterung der Finnen auf eine Verschleppung von Eitererregern mit der eingewanderten Wurmbrut zurückzuführen ist. Ostertag gibt auch der Möglichkeit Raum, indem er sich auf die Versuche von Fränkel²⁾ bei Kaninchen bezieht, daß die Vereiterung der Rinderfinnen infolge einer Ausscheidung von Bakterien aus dem Blute in die Finnenbälge zustande kommt. Wie wir weiter unten sehen werden, sind aber die Versuche Fränkels als beweisend und die daraus gezogene Schlußfolgerung als zutreffend nicht anzusehen. Ob beim Schweine die Lebensdauer des *Cysticercus cellulosae* in ähnlicher Weise eine zeitlich beschränkte ist, wie beim Rinde, steht noch nicht genau fest. Ich habe in der Literatur keine Angaben gefunden, die das Vorkommen von Finnen bei älteren Schweinen ausschließen.

Ueber die Lebensdauer des *Cysticercus cellulosae* beim Menschen hat Braun³⁾ Mitteilung gemacht. Nach diesem Autor ist die Lebensdauer des *Cysticercus cellulosae*, der bekanntlich durch

1) Ostertag, Handbuch d. Fleischschau. 1904. p. 444.

2) Fränkel, Ueber den Durchtritt von Mikroben in das Innere von *Cysticercus*-blasen beim Kaninchen. Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. 6. No. 17. p. 90.

3) Braun, Die Parasiten des Menschen. 1903. p. 222.

Autoinfektion bei mit *T. solium* behafteten Menschen zur Entwicklung gelangt, eine sehr lange. Man hat Augenfinnen bis zu 20 Jahre lang beobachtet und bei Hirnfinnen vom ersten Auftreten der Hirnsymptome bis zum Tode 10—19 Jahre verfließen sehen.

Beim Hasen erzeugt der *Cysticercus pisiformis*, die Finne der *T. serrata*, ähnliche Veränderungen, wie der *Cysticercus tenuicollis* bei den Haustieren. Der *Cysticercus pisiformis* unterliegt aber nicht nur im Inneren, sondern auch auf der Oberfläche der Eingeweide sehr häufig käsigem Zerfall. Die Cysticerkenkrankheit der Hasen kann seuchenartig auftreten und infolge der Verkäsung der Parasiten zur Verwechselung mit Tuberkulose Veranlassung geben (Ostertag).

Elgene Untersuchungen.

Als Material für meine Untersuchungen standen mir in reicher Auswahl lebende und degenerierte Echinokokken und Cysticerken von Rindern, Schafen, Schweinen und auch von Kaninchen zur Verfügung. Die Verarbeitung des in Frage kommenden Materials habe ich stets unmittelbar nach der Schlachtung der Tiere vorgenommen. Ich untersuchte zunächst bakteriologisch in größerer Zahl (vgl. Tabellen) abgestorbene und verkäste Echinokokken und Cysticerken der verschiedenen in Frage kommenden Arten:

Cysticercus inermis,
Cysticercus cellulosae,
Cysticercus tenuicollis,
Cysticercus pisiformis.

Die Natur der verkästen Echinokokken als solche wurde in jedem irgendwie zweifelhaften Falle durch genaue Untersuchung der Organ-lymphdrüsen und durch die mikroskopische Feststellung des lamellosen Baues der Cuticula der Parasitenmembran sichergestellt. Namentlich wurde beim *Echinococcus multilocularis* der Leber eine genaue Untersuchung in Schnittpräparaten ausgeführt, um eine Verwechselung mit Tuberkulose (konglomerierte Lebertuberkel) sicher auszuschließen.

Um auch bei den Cysticerken in Zweifelsfällen Gewißheit über die Parasitennatur zu haben, fertigte ich Quetschpräparate aus dem käsigen Detritus an und konnte dann leicht bei schwacher Vergrößerung die Anwesenheit der typischen Kalkkörperchen in den abgestorbenen Finnen nachweisen. Bei abgestorbenen Schweine-, Schaf- und Kaninchenfinnen wurde die parasitäre Natur der verkästen Muskel- und Leberknötchen durch das Auffinden der Haken erleichtert.

Die bakteriologische Untersuchung der abgestorbenen und in regressiver Veränderung begriffenen Echinokokken und Finnen wurde in der Weise ausgeführt, daß nach vorherigem Abbrennen der äußeren Hülle des Parasitenknötchens dieses mit einem Messer oder steriler Schere freigelegt wurde. Mit sterilem Messer oder auch direkt mit einem ausgeglühten und wieder abgekühlten, dicken Platindraht wurde alsdann der mehr oder weniger trockene, eiterige oder käsige Inhalt auf die entsprechenden Nährböden übertragen und auf diesen gleichmäßig verteilt und eingerieben. In den Fällen, in welchen der Inhalt des Parasitenknötchens trocken-käsig oder verkalkt war, verrieb ich denselben in einem sterilen Mörser mit etwas steriler Bouillon zu einem dünnen gleichmäßigen Brei und verimpfte diesen auf die fraglichen Nährböden.

Zur Isolierung der Keime bediente ich mich des Plattenverfahrens. Nach dem Anlegen der Kulturen wurden Ausstriche für die mikroskopische Untersuchung angefertigt und nach den entsprechenden Methoden gefärbt. Endlich wurde in verschiedenen Fällen der verkäste Inhalt von Echinokokken und Cysticerken auf kleine Versuchstiere verimpft. Es wurden im ganzen 6 Meerschweinchen, 2 Kaninchen und 10 Mäuse subkutan geimpft mit dem Erfolg, wie jetzt schon erwähnt sei, daß nur bei einem Meerschweinchen sich ein Absceß an der Impfstelle entwickelte. Bei den übrigen Versuchstieren wurde das eingebrachte Impfmateriel glatt ohne Reaktion resorbiert. Die Ausstrichpräparate wurden mit Loefflers alkalischer Methylenblaulösung, mit Karbolthionin, verdünntem Karbolfuchsin und nach Gram gefärbt. Auffallend war der geringe Bakteriengehalt in dem in Zerfall begriffenen Inhalt der Parasitenknötchen. Es waren in den Materialausstrichen Kokken, Diplokokken, Streptokokken und verschiedene Stäbchenarten, die teils nach Gram, teils nicht nach Gram färbbar waren, immer nur in geringer Anzahl nachzuweisen. Kokken in traubenförmiger Anordnung habe ich in keinem einzigen Falle gesehen. Der Hauptsache nach bestand der eiterähnliche oder mehr bröckelige Käse aus scholligem Detritus, welcher sich schwach oder nicht mehr färbte. Dazwischen lagen vereinzelte Lymphocyten, polynukleäre Leukocyten und Bindegewebszellen verschiedener Form, außerdem gelegentlich beim *Cysticercus cellulosae*, *C. tenuicollis* und *C. pisiformis* Häkchen oder Fragmente derselben. In dem eingedickten Detritus von Echinokokken fanden sich sehr oft Cuticularfetzen mit lamellösem Bau.

Entsprechend dem Nachweise vereinzelter Bakterien in den Ausstrichpräparaten gingen in den angelegten Agarplattenkulturen und in den Ausstrichen auf Schrägagar Kolonien von Staphylokokken, Streptokokken, Stäbchen etc. in verhältnismäßig geringer Zahl auf. Vollkommen steril blieben die Kulturen meistens in den Fällen, in denen der Parasiteninhalt eine trockene, käsige Beschaffenheit zeigte oder gar mehr oder weniger vollständig verkalkt war.

Das Resultat der Untersuchungen habe ich in nachfolgender Tabelle zusammengefaßt (s. p. 54—60).

Eine befriedigende Lösung, was die Ursache des Absterbens und der regressiven Veränderungen der Echinokokken und der Cysticerken ist, hat somit die bakteriologische Untersuchung der bereits abgestorbenen, verkästen oder verkalkten Parasitenknötchen nicht ergeben. Es war immerhin noch denkbar, daß es sich hierbei um einen nekrobiotischen Prozeß oder um eine Metaplasie handelte, und daß die Bakterien sekundär in diese abgestorbenen Parasiten hineingelangen, in ähnlicher Weise, wie dieses bei Leberechinokokken des Menschen von Hühn und Joa nović (l. c.) für den Typhusbacillus in einem Falle von Abdominaltyphus, von Galliard (l. c.) für den Pneumococcus bei Vereiterung eines Leberechinococcus des Menschen, sowie von Bongert (l. c.) für den Tuberkelbacillus in 2 Fällen von verkästen Echinokokken in der Leber tuberkulöser Rinder festgestellt worden ist. Hier aber, dem Grundsatz „post hoc ergo propter hoc“ folgen und die gefundenen Bakterien mit dem Absterben und der Vereiterung oder Verkäsung der Parasiten in ursächliche Beziehung bringen zu wollen, wäre vollkommen irrig, denn es kann nicht weiter auffällig erscheinen, daß bei Tuberkulose eines Organes oder bei der Typhuserkrankung des Menschen die spezifischen Krankheitserreger auch in die zufällig vorhandenen Parasitenknötchen hineingelangen. All-

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
A. Echinokokken.			
1.	Rind. Echinococcus polymorphus aus Lunge, haselnußgroß, gelblichen Käse enthaltend	Lamellöse Cuticularfetzen. Vereinzelte Leukocyten u. Lymphocyten. Kokken, Diplokokken + Gr. ¹⁾ , plumpe Stäbchen — Gr. ²⁾ , in geringer Zahl	Es gehen auf in großer Zahl: Staphylococcus albus, große Monokokken, Bact. coli und Streptokokken
2.	Rind. Echinococcus polymorphus aus Leber, erbsengroß, grünlich-gelblichen Käse enthaltend	Bindegewebsfetzen. Viele Leukocyten. Vereinzelte Kokken + Gr.	In großer Zahl gehen auf: Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, große Monokokken, kleine und kleinste Kokken
3.	Schwein. Echinococcus polymorphus aus Leber, bohngroß, mit weißem, verkästem, zentral verkalktem Inhalt	Zahlreiche polynukleäre Leukocyten. Bindegewebszellen. Kalkkonkremente. Vereinzelte Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., längere Stäbchen + Gr.	Vereinzelte Kolonien von Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, Sarcinen, Bact. coli, Heubacillen
4.	Echinococcus polymorphus aus Schaflunge. Kirschgroß, grünlichen, trockenen Käse enthaltend	Zahlreiche polynukleäre Leukocyten. Scholliger Detritus. Einige zerstreut liegende Lymphocyten. Kokken, lange Stäbchen + G., in geringer Zahl	Zahlreiche Kolonien von Staphylococcus albus, Diplokokken, Tetraden, diphtherieähnlichen Stäbchen
5.	Echinococcus multilocularis aus Rinderleber. Parasitenherd kirschgroß, gelblichen, trockenen Käse enthaltend	Scholliger Detritus und vereinzelte Lymphocyten. Polynukleäre Leukocyten in geringer Zahl. Vereinzelte Kokken und lange Stäbchen + Gr.	Auf Plattenkulturen gingen wenige Kolonien von Staph. aureus, Diplokokken, Tetraden, diphtherieähnlichen Stäbchen, Heubacillen auf
6.	Schaf. Echinococcus polymorphus aus Leber, haselnußgroß, mit weißem, verkästem, zentral verkalktem Inhalt	Zelliger Detritus. Kalkkonkremente. Bakterien nicht nachweisbar	Kulturen steril
7.	Rind. Echinococcus multilocularis aus Leber, pflaumengroß, grünlichen Käsebrei enthaltend	Wenige Lymphocyten. Gestreifte Cuticularfetzen. Vereinzelte Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., kurze Stäbchen — Gr.	Es gehen in großer Zahl auf: Staph. albus, Staph. aureus, große Monokokken, kleine Kokken, diphtherieähnliche Stäbchen, schweineseucheähnliche Stäbchen
8.	Schaf. Echinococcus polymorphus aus Lunge, Knoten kirschgroß, von grünlichem, trockenem, käsigem Inhalt	Polynukleäre Leukocyten. Cystenwandreste. Kokken, Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr., in geringer Zahl	In isolierten Kolonien gehen auf: Staph. albus, Diplokokken, kleine u. kleinste Kokken, Sarcinen, Streptokokken, Bact. coli, diphtherieähnliche Stäbchen
9.	Kirschkerne großer Echinococcus polymorphus aus Rinderlunge mit schokoladenartigem, dünnbreiigem Inhalt	Gut sich färbende Leukocyten in mäßiger Zahl. Cuticularfetzen. Kokken + Gr., Stäbchen — Gr.	Es gehen auf zahlreiche Kolonien von Staph. alb., Staph. aureus, Tetraden, Sarcinen, bipolaren schweineseucheähnlichen Stäbchen
10.	Echinococcus polymorphus aus Schafleber, apfelgroß, mit grünlichem, käsigem, zentral verkalktem Inhalt	Mononukleäre und polynukleäre Leukocyten in mäßiger Zahl. Kalkkonkremente. Kokken + Gr., Stäbchen + Gr.	In isolierten Kolonien gehen auf: Staph. albus, Staph. aureus, große Monokokken, bipolare coliartige Stäbchen (+ Gr.)

1) + Gr. = nach Gram färbbar. 2) — Gr. = nicht nach Gram färbbar.

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
11.	Schwein. Echinococcus polymorphus aus Lunge, pflaumengroß, mit gelblichem, eiterigem Inhalt	Leukocyten, Cuticularreste, schollige Zelltrümmer. Kokken + Gr., kleine Stäbchen — Gr., in geringer Zahl	In großer Zahl gehen in den Kulturen auf Kolonien von Staph. albus, Staph. aureus, Staph. citreus, Sarcinen, Tetraden, bipolaren schweineseucheäbnl. Stäbchen
12.	Rind. Echinococcus multilocularis aus Leber, kirschgroß, mit gelblichem, käsigem, zentral verkalktem Inhalt	Mononukleäre und polynukleäre Leukocyten in geringer Zahl, Kalkkonkremente, scholliger, zellenreicher Detritus, Bakterien nicht nachweisbar	Kulturen steril
13.	Echinococcus polymorphus aus Rinderleber. Parasit bohngroß, grünlichen Käsebrei enthaltend	Leukocyten, Cuticularfetzen, Zelltrümmer. Kokken, plumpe Stäbchen, lange Stäbchen, Streptokokken + Gr., in mäßiger Zahl	Platten besät mit Kolonien von Staph. albus, Staph. aureus, Staph. flavus, pleomorphen Diphtheriebacillen, bipolaren coliartigen Stäbchen + Gr., Streptokokken
14.	Echinococcus polymorphus aus d. Lunge eines Schafes. Parasit faustgroß, mit schokoladenartigem Inhalt	Vereinzelte Leukocyten. Cuticularreste. Zahlreiche Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., plumpe Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	In großer Anzahl gingen auf: Staph. albus, Staph. aur., Diplokokken, schweineseucheähnliche Stäbchen, diphtherieähnliche Stäbchen, Heubacillen
15.	Schwein. Echinococcus polymorphus aus Leber, erbsengroß, mit gelblich-käsigem Inhalt	Lymphocyten und polynukleäre Leukocyten in erheblicher Zahl. Kokken + Gr., kleine Stäbchen — Gr., in mäßiger Zahl	In größerer Anzahl gehen auf Kolonien von Staph. albus, Staph. aureus, großen Kokken, kleinen und kleinsten Kokken, B. coli
16.	Echinococcus polymorphus aus d. Lunge eines Rindes, haselnußgroß, schwarzbraune Flüssigkeit enthaltend	Zahlreiche Leukocyten. Cuticularfetzen. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr., in großer Zahl	Kulturen dicht besät mit Kolonien von großen Monokokken, kleinen und kleinsten Kokken, Bact. coli, diphtherieähnlichen Stäbchen
17.	Rind. Echinococcus polymorphus aus Lunge, pflaumengroß. Inhalt trocken, käsig, zum Teil verkalkt	Viele Lymphocyten u. polynukleäre Leukocyten. Cuticularfetzen, Kalkkonkremente, Bakterien nicht nachgewiesen	Kulturen steril
18.	Schwein. Echinococcus polymorphus aus Leber, erbsengroß, gelblichen, trockenen Käse enthaltend	Gewebestrümmer. Vereinzelte Leukocyten. Cuticularreste. Wenige Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr.	In mäßiger Zahl gehen auf: Staph. albus, Staph. aur., Tetraden, Sarcinen, Bact. coli
19.	Schwein. Echinococcus polymorphus aus d. Lunge, kirschgroß, mit weißem, eiterartigem Inhalt	Verhältnismäßig zahlreiche Lymphocyten. Wenige polynukleäre Leukocyten. Kokken, lange Stäbchen + Gr.	In größerer Anzahl gehen auf: Staph. albus., Staph. aur., Staph. citreus, große Monokokken, kleine Kokken, diphtherieähnliche Stäbchen, Heubacillus
20.	Rind. Echinococcus polymorphus aus d. Leber, erbsengroß, mit weißem, käsig-kalkigem Inhalt	In mäßiger Zahl mono- und polynukleäre Leukocyten. Cuticularreste v. lamellös. Bau. Kalkkonkremente. Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	In mäßiger Zahl gingen isolierte Kolonien auf von Staph. aureus, Streptokokken, Bact. coli, bipolaren schweineseucheäbnl. Stäbchen, diphtherieähnlichen Stäbchen

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
21.	Echinococcus polymorphus aus einer Schafleber. Haselnußgroß, mit wässerigem, trübem Inhalt	Wenige Leukocyten. Kokken + Gr., kleine Stäbchen — Gr.	Plattenkulturen überwuchert mit dicht gedrängten Kolonien von Staph. albus, Staph. aureus, Tetraden, Sarcinen, Bacterium coli, schweineseucheänl. Stäbchen
22.	Echinococcus polymorphus aus Schweinelunge. Apfelgroß, mit wässerigem Inhalt	Im Bodensatz der zentrifugierten Echinokokkenflüssigkeit vereinzelte Leukocyten u. in großer Zahl Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Auf Agarplatten gehen zahlreiche Kolonien auf von großen Monokokken, kleinen u. kleinsten Kokken, bipolaren coliartigen Stäbchen + Gr., diphtherieähnlichen Stäbchen und Heubacillen
23.	Intakter Echinococcus polymorphus aus der Lunge eines Rindes. Walnußgroß, mit wässerigem, getrübbtem Inhalt	Leukocyten in mäßiger Zahl, Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr., im Ausstrich nachgewiesen	Zahlreiche Kolonien von Staph. albus, Staph. aur., Tetraden, Bacterium coli, Pseudodiphtheriebacillen, Heubacillen
24.	Echinococcus multilocularis. Rinderleber, mit getrübbtem, wässerigem Inhalt	Wenige Leukocyten. Gewebsetzen in größerer Menge. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Zahlreiche dicht gedrängte Kolonien v. Staph. albus, Staph. aureus, Sarcinen, schweineseucheänl. Stäbchen, Heubacillen
25.	Rind. Echinococcus multilocularis aus d. Leber. Pflaumengroß, mit flüssigem, trübem Inhalt	Vereinzelte Leukocyt., Bindegewebsetz., Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr., in großer Zahl	Platten dicht besät mit Kolonien von Staph. albus, Staph. aureus, Bact. coli, diphtherieänl. Stäbchen
26.	Echinococcus polymorphus, Schafleber. Kirschgroß. Flüssiger Inhalt	Vereinzelte Lymphocyten. Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr.	In großer Zahl gehen auf: große Monokokken, Staph. albus, Streptokokken, Tetraden, Sarcinen, Bact. coli, bipolare schweineseuchenähnliche Stäbchen
27.	Echinococcus polymorphus aus Schweineleber. Haselnußgroß, mit flüssigem Inhalt	Im Bodensatz der zentrifugierten Echinokokkenflüssigkeit: Vereinzelte Leukocyten und Gewebstrümmer. Sehr zahlreiche Kokken + Gr., kurze Stäbchen + und — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten dicht besät mit Kolonien von: Staph. albus, Staph. aureus, Staph. flavus, Tetraden, bipolaren coliartigen Stäbchen. + Gr., bipolaren schweineseuchenähnlichen Stäbchen
28.	Apfelgroßer Leberechinococcus vom Schwein, mit flüssigem, etwas trübem Inhalt	Vereinzelte Leukocyten. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr. in größerer Zahl im Bodensatz der zentrifugierten Echinokokkenflüssigkeit mikroskopisch nachgewiesen	Platten dicht besät mit Kolonien von großen Monokokken, kleinen und kleinsten Kokken, Staph. albus, Sarcinen, diphtherieähnlichen Stäbchen, Heubacillen
29.	Echinococcus polymorphus aus der Rinderlunge. Walnußgroß mit flüssig. Inhalt	Wenige Lymphocyten. In großer Zahl Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	In großer Anzahl gehen Kolonien auf von Staph. albus, Staph. aureus, Tetraden, Sarcinen, Streptokokken, Bacterium coli, schweineseucheänl. Stäbchen. Heubacillen

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
30.	<i>Echinococcus polymorphus</i> aus einer Schaflunge. Haselnußgroß mit flüssig. Inhalt	Polynukleäre Leukocyten in mäßiger Zahl. Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Dicht besäte Platten enthalten Kolonien von: groß. Monokokken, Staph. albus, Staph. aureus, Staph. citreus, Tetraden, Sarcinen, diphtherieähn. Stäbchen
B. Cysticerken.			
31.	<i>Cysticercus inermis</i> im linken äußeren Kaumuskel, 7 mm lang, 3 mm breit, grünlichen Käse enthaltend	Verhältnismäßig zahlreiche Leukocyten und Gewebsdetritus. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr. in geringer Anzahl	Auf Agarplatten gingen verhältnismäßig zahlreiche Kolonien auf von: Staph. albus, Staph. aureus, diphtherieähnliche Stäbchen
32.	<i>Cysticercus inermis</i> d. Herzmuskulatur, ca. 8 mm lang, ca. 3 mm lang, enthält grünlich-gelblichen Käse	Lymphocyten und polynukleäre Leukocyten in mäßiger Zahl. Gewebsstrümmen, Kokken + Gr. Lange Stäbchen + Gr., kurze Stäbchen + Gr., vereinzelt gelegen	Es gingen viele Kolonien auf von: Staph. albus, großen Kokken, kleinen und kleinsten Kokken, diphtherieähn. Stäbchen, bipolaren coliartigen Stäbchen + Gr.
33.	<i>Cysticercus cellulosae</i> aus dem muskulösen Teil des Zwerchfelles. Hanfkorn groß, mit gelblich-käsigem Inhalt	Gewebsstrümmen und Leukocyten. Kokken + Gr. Plumpe Stäbchen — Gr. mikroskopisch nachgewiesen	Auf Agarplatten gingen zahlreiche Kolonien auf von: Staph. albus, Staph. aureus, Tetraden, Sarcinen, Bact. coli
34.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> aus dem Netze des Schafes. Haselnußgroß, grünlich, verkäst	In größerer Zahl polynukleäre Leukocyten. Kalkkonkremente und Gewebsfetzen. Vereinzelte Kokken + Gr., Streptokokken + Gr.	Es gingen vereinzelte Kolonien auf von: großen Monokokken und Diplokokken.
35.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem rechten inneren Kaumuskel, 6 mm lang, 3 mm breit, grünlich-gelblichen Käse enthaltend	Viele Leukocyten, vereinzelte Bindegewebsfetzen, zelliger Detritus. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., kurze Stäbchen + Gr., in geringer Zahl	Es gingen zahlreiche Kolonien auf von Staph. albus, Staph. aureus, diphtherieähnlich. Stäbchen, bipolaren coliartigen Stäbchen + Gr.
36.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem äußeren link. Kaumuskel, 6 mm lang, 4 mm breit, mit eiterartigem Inhalt	Zahlreiche mono- und polynukleäre Leukocyten. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., in mäßig. Zahl	Platten mit dichten Kolonien besät von großen Monokokken, kleinen und kleinsten Kokken, großen Sarcinen, bipol. schweineseucheähnlichen Stäbchen
37.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> vom Netze des Schafes. Haselnußgroß, grünlich verkäst, zentral verkalkt	Viele mono- und polynukleäre Leukocyten. Kalkiger Detritus. Bakterien nicht nachweisbar	Kulturen steril
38.	<i>Cysticercus cellulosae</i> aus der Zungenmuskulatur des Schweines. Hanfkorn groß, mit weißem, käsigem Inhalt	Vereinzelte mononukleäre Leukocyten, zahlreiche polynukleäre Leukocyten, runde Kalkkörperchen, vereinzelte Häkchen, Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., in geringer Zahl	Es gingen zahlreiche Kolonien auf von Staph. albus, Staph. aureus, Sarcinen, diphtherieähnlichen Stäbchen, Heubacillen
39.	<i>Cysticercus inermis</i> aus der Herzmuskulatur d. Kalbes, 5 mm lang, 3 mm breit. Inhalt: gelblich-grüner Käse	Zahlreiche Leukocyten, scholliger, schlecht färbbarer Detritus. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., Diplokokken + Gr.	Es gingen zahlreiche Kolonien auf von Staph. albus, Staph. aureus, Bakterium coli, Streptokokken

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
40.	<i>Cysticercus cellulosae</i> aus der Herzmuskulatur, hanfkorn groß, mit weißem, käsigem Inhalt	Polynukleäre Leukocyten, Kalkkörperchen, Fragmente von Häkchen. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten dicht besät mit Kolonien von <i>Staph. albus</i> , großen Monokokken, Tetraden, <i>Bact. coli</i> , bipolaren schweineseucheähnlichen Stäbchen, diphtherieähnlich. Stäbchen
41.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem inneren link. Kaumuskel, 5 mm lang, 3 mm breit, mit grünlich-käsigem Inhalt	Zahlr. Leukocyt., scholliger Detritus. Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., Streptokokken + Gr., in mäßiger Zahl	In großer Zahl gingen auf: <i>Staph. albus</i> , <i>Staph. aureus</i> , Diplokokken, Tetraden, diphtherieähnliche Stäbchen, Streptokokken
42.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> an dem serösen Ueberzuge des Dünndarms sitzend, mit eitrigem Inhalt	Sehr viele mono- und polynukleäre Leukocyten. Zerstreut liegen Kokken + Gr., Diplokokken + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten dicht besät mit Kolonien, welche enthalten: große Monokokk., kleine u. kleinste Kokken, Diplokokken, Sarcinen, diphtherieäehn. Stäbchen, Heubacillen
43.	<i>Cysticercus inermis</i> aus der Herzmuskulatur, 9 mm lang, 5 mm breit, von grünlicher Farbe, verkäst, zentral verkalkt	Vereinzelte Lymphocyten. Scholliger Detritus. Runde Kalkkörperchen	Kulturen steril
44.	<i>Cysticercus inermis</i> aus der Herzmuskulatur d. Kalbes, 7 mm lang, 3 mm breit, grünlichen Käsebrei enthaltend	Lymphocyten u. polynukleäre Leukocyten zahlreich vorhanden, Bindegewebsfetz. Kokken + Gr., vereinzelte Stäbchen + Gr., lange Stäbchen + Gr. in mäßiger Zahl	Auf den Agarplatten gehen zahlreiche Kolonien auf von großen Monokokken, <i>Staph. albus</i> , <i>Staph. aureus</i> , Tetraden, bipolaren coliformen Stäbchen + Gr., Heubacillus
45.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> aus der Schafleber. Kirschgroß, mit weißem, käsigem Inhalt	Vereinzelte Lymphocyten u. polynukleäre Leukocyten, scholliger, schlecht färbbarer Detritus. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., plumpe Stäbchen — Gr.	Platten dicht besät mit isolierten Kolonien v. großen Monokokk., Semmelkokk., Sarcinen, diphtherieäehn. Stäbchen, schweineseucheähnlichen Stäbchen
46.	<i>Cysticercus inermis</i> . Lunge des Rindes. 7 mm lang, 3 mm breit, mit eitrigem Inhalt	Viele mono- und polynukleäre Leukocyt. Kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Es gehen in großer Anzahl isolierte Kolon. auf von: <i>Staph. aureus</i> , <i>Staph. albus</i> , Monokokken, Tetraden, <i>Bact. coli</i> , diphtherieähnlich. Stäbchen. Heubacillus
47.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem inneren linken Kaumuskel, 5 mm lang, 2,5 mm breit, mit grünlich-gelblichem, käsig-kalkigem Inhalt	Vereinzelte Lymphocyten. Kalkkonkremente. Bakterien nicht nachweisbar	Kulturen steril
48.	<i>Cysticercus pisiformis</i> aus dem Gekrösblatt, 6 mm lang, 4 mm breit, mit gelblich käsigem Inhalt	Zahlreiche mono- und polynukleäre Leukocyten, Bindegewebsfetzen. Kokk. + Gr., kurze Stäbch. — Gr. in geringer Zahl	Auf den Platten gingen isolierte Kolonien in mäßiger Zahl auf, welche enthielten: <i>Staph. aureus</i> , große Kokken, kleine Kokken, Tetraden, Sarcinen, <i>Bact. coli</i> , bipolare, schweineseucheähnliche Stäbchen

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulterergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
49.	<i>Cysticercus cellulosae</i> aus der Herzmuskulatur. Erbsengroß, mit gelblichem, verkästem Inhalt	Leukocyten in großer Zahl. Runde Kalkkörperchen. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., plumpe Stäbchen — Gr. in mäßig. Zahl	In großer Anzahl gehen auf: Kolonien von Monokokk., Semmelkokken, Sarcinen, diphtherieäbnl. Stäbchen und schweineseucheäbnl. Stäbchen
50.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem äußeren rech. Kaumuskel, 7,5 mm lang, 4 mm breit, mit grünlichem, eitrigem Inhalt	Lymphocyten u. polynukl. Leukocyten in groß. Zahl. Zahlreiche Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten sind dicht besät mit Kolonien von: Staph. albus, Staphyl. citreus, Bact. coli, diphtherieäbnlichen Stäbchen, Heubacillus
51.	<i>Cysticercus inermis</i> aus dem inneren linken Kaumuskel. 6 mm lang, 3 mm breit, mit grünlichem, eitrigem, zentral verkästem Inhalt	Viele polynukleäre Leukocyten, Bindegewebsfetzen. Kokken + Gr., Stäbchen — Gr. in geringer Zahl	Zahlreiche Kolonien von: großen Monokokk., klein. Kokken, Staph. albus, Tetraden, Bact. coli
52.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> vom Netzes des Schafes. Kirschengroß, mit eitrigem Inhalt	Vereinzelte Lymphocyten, zahlreiche polynukleäre Leukocyt. Kokken + Gr. Diplokokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten dicht besät mit Kolonien von: Staph. aureus, Staph. flavus, Sarcinen, Bact. coli, schweineseucheäbnlichen Stäbchen, diphtherieäbnlich. Stäbchen, Heubacillus
53.	<i>Cysticercus inermis</i> aus der Herzmuskulatur. Erbsengroß, gelblich verkäst, zentral verkalkt	Vereinzelte Lymphocyten, polynukleäre Leukocyten in mäßiger Zahl. Kalkkonkremente. Bakterien nicht nachweisbar	Kulturen steril
54.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> aus dem serösen Darmüberzuge des Schweines. Haselnußgroß, mit gelblich-käsigem Inhalt	Viele mono- und polynukl. Leukocyt. Kokken + Gr., kurze Stäbchen + Gr., lange Stäbchen + Gr. vereinzelt nachweisbar	Platten dicht besät mit Kolonien von: Staph. aureus, Sarcinen, schweineseucheäbnlichen Stäbchen, diphtherieäbnlichen Stäbchen
55.	<i>Cysticercus pisiformis</i> aus d. Gekrösblättern. Erbsengroß, mit wässerigem, getrübt. Inhalte	Skolex u. Hakenkranz nachweisbar. Kokken + Gr., lange Stäbchen + Gr., kurze Stäbchen — Gr.	Flüssigkeit in Bouillon aufgeschwemmt und auf Agarplatten verteilt erzeugt zahlreiche Kolon., welche enthalten: Staph. albus, Staph. citreus, Staph. flav., diphtherieäbnl. Stäbchen + Gr., Heubacillen + Gr., Bact. coli — Gr.
56.	<i>Cysticercus cellulosae</i> aus d. Muskulatur der Einwärtszieher des linken Hinterchenkels. Hanfkorngroß mit wässerigem Inhalte	Vereinzelte Lymphocyten. Skolex und Hakenkranz nachweisb. Kokken + Gr., kurze Stäbchen — Gr., lange Stäbchen + Gr.	Flüssigkeit mit Bouillon vermischt und auf Agarplatten gebracht erzeugt zahlreiche Kolonien von: Staphyl. albus, Staphyl. aureus, Staphyl. citreus, Tetraden, Bacterium coli, schweineseucheäbnl. Stäbchen, Heubacillen
57.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> aus der Leber des Schafes. Walnußgroß mit wässerig. Inhalt	Vereinzelte Leukocyten. Kokk. + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Platten dicht besät mit Kolonien von: Staph. albus, Staph. aureus, Tetraden, Sarcinen, diphtherieäbnlich. Stäbchen

Lfd. No.	Tiergattung, Art des Parasiten, Fundort, Größe und Beschaffenheit desselben	Histologischer und bakteriologischer Befund des Parasiteninhaltes	Kulturergebnis, Zahl der aufgegangenen Keime, Art derselben
58.	<i>Cysticercus tenuicollis</i> aus dem Netze des Schweins. Walnußgroß m. wässerig. Inhalt	Im Bodensatz der zentrifugierten <i>Tenuicollis</i> flüssigkeit mikroskopisch sichtbar: Vereinz. Leukocyten, sowie Gewebstrümmer u. Kokken + Gr., Diplokokk. + Gr., kurze Stäbchen — Gr.	In großer Anzahl gingen Kolonien auf von: <i>Staph. albus</i> , groß. Monokokken, Sarcinen, bipolaren, schweineseucheäbnl. Stäbchen, <i>Bact. coli</i>
59.	<i>Cysticercus inermis</i> aus der Herzmuskulatur, 7 mm lang, 3 mm breit, mit flüssigem, klarem Inhalt	Vereinzelte Lymphocyten, Skolex mit Saugnäpfen nachweisbar, Kokk. + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Auf Agarplatten gingen zahlreiche Kolonien auf von: <i>Staph. albus</i> , <i>Staph. aureus</i> , <i>Staph. citreus</i> , Tetraden, diphtherieäbnl. Stäbchen, Heubacillen
60.	<i>Cysticercus pisiformis</i> aus d. Gekrösblättern. Erbsengroß, m. klarem, flüssigem Inhalt	Vereinz. Leukocyten. Skolex und Hakenkranz nachweisbar. Kokken + Gr., kurze Stäbchen + Gr., lange Stäbchen + Gr.	Auf Agarplatten gingen zahlreiche Kolonien auf von: <i>Staph. albus</i> , <i>Staph. aureus</i> , Tetraden, bipolaren, coliartigen Stäbchen + Gr., diphtherieäbnl. Stäbchen, Heubacillen

gemein aber für das häufige Absterben und die regressiven Veränderungen der Parasitenknötchen als Ursache eine sekundäre Besiedelung derselben mit Bakterien von der Blutbahn aus anzunehmen, dafür findet sich kein Anhalt. Diese Annahme stützt sich, wie bereits angegeben, auf die Versuche von Fränkel (l. c.). Derselbe hat Kaninchen durch Verfüttern von Proglottiden der *T. serrata* mit deren Wurmbrut infiziert und ca. 4 Wochen nach der Fütterung den Versuchstieren eine Aufschwemmung von Staphylokokken in die Ohrvene injiziert. Aus dem Nachweis der Staphylokokken in den Finnenbälgen der bei den Kaninchen vorgefundenen *Cysticercen* folgert Fränkel, daß die Staphylokokken vom Blut aus in die Finnen ausgeschieden seien. Ich habe bei der Nachprüfung der Fränkelschen Versuche dessen Ansicht nicht bestätigt gefunden. Ich fütterte ebenfalls mit Proglottiden der *T. serrata* 6 Kaninchen. Ein Kaninchen starb in der 4. Woche nach der Fütterung. Die bei diesem und bei einem anderen später eingegangenen und zur Untersuchung eingelieferten Kaninchen im freien Raum der Bauchhöhle vorgefundenen *Cysticercen* zeigten sich bakterienhaltig. Es fanden sich nämlich Staphylokokken (*Staphylococcus albus* und *aureus*), Sarcinen und verschiedene Stäbchenarten. Bei den 5 überlebenden Kaninchen wurde je 1 ccm einer Aufschwemmung einer Kultur von *Staphylococcus aureus*, die aus einem verkästen *Echinococcus* isoliert worden war, in die Randvene des Ohres injiziert. 3 Wochen nach der Injektion wurden die Kaninchen getötet. Es fanden sich 15—20 intakte Exemplare des *Cysticercus pisiformis* vor mit klarer Schwanzblasenflüssigkeit, in der Bakterien, unter diesen auch Staphylokokken, nachgewiesen wurden, jedoch keineswegs in größerer Zahl, wie bei den nicht intravenös mit Staphylokokken infizierten Kaninchen. Hierdurch ist bewiesen, daß lediglich aus dem Nachweis von Staphylokokken in den Kaninchenfinnen Fränkel nicht berechtigt war, den Schluß zu ziehen, daß die Staphylokokken vom Blute aus in die Finnen ausgeschieden seien.

Es ist aber nach meinem Dafürhalten mit der Möglichkeit zu rechnen, daß zu Anfang in den Parasiten die Bakterien in größerer Zahl vorhanden sind, aber mit der fortschreitenden Inspissation, Eintrocknung und Verkalkung allmählich zugrunde gehen, wie dieses auch in abgeschlossenen Abscessen gelegentlich beobachtet wird. Wenn diese Ansicht richtig ist, und wenn vor allen Dingen Bakterien das Absterben der Echinokokken und Finnen verursachen, dann müssen dieselben auch in vollkommen intakten, jugendlichen Parasiten in erheblicher Zahl und häufig vorhanden sein. Erweist sich diese Annahme den Tatsachen entsprechend, so ist auch bewiesen, daß eine Verschleppung der Bakterien bei der Einwanderung mit der Wurmbrut stattfindet, wie dieses bereits für die Vereiterung der Rinderfinnen von Ostertag (l. c.) als wahrscheinlich angenommen wurde.

Ich richtete infolgedessen meine weiteren bakteriologischen Untersuchungen auf intakte Echinokokken und Finnen mit noch vollkommen klarer Schwanzblasenflüssigkeit, und fand meine Annahme in vollem Umfange bestätigt.

Die zum Anlegen der Kulturen benutzte Parasitenflüssigkeit wurde nach vorherigem Abbrennen der Blasenwand mit steriler Pipette oder Spritze entnommen und dann zur Plattenaussaat benutzt. Es zeigte sich der klare, flüssige Inhalt von Echinokokken der verschiedenen Schlachttiere und die Schwanzblasenflüssigkeit intakter Finnen der verschiedenen Species ausnahmslos und in den meisten Fällen verhältnismäßig stark bakterienhaltig.

Es wurden im großen und ganzen dieselben Bakterienarten, aber in erheblich größerer Anzahl wie in den verkästen Parasitenknötchen nachgewiesen. Besonders fiel der starke Bakteriengehalt der Schwanzblasenflüssigkeit bei den Finnenspecies, insbesondere bei *Cysticercus tenuicollis*, auf. Zur mikroskopischen Untersuchung diente der Bodensatz der zentrifugierten Parasitenflüssigkeit, in welchem die verschiedenen Bakterien leicht nachzuweisen waren. Im ganzen wurde die mehr oder weniger klare Flüssigkeit von 50 verschiedenen Echinokokken und ebensovielen intakten Finnen der verschiedenen Species bakteriologisch untersucht. Der Keimgehalt bei der Echinokokkenflüssigkeit schwankte zwischen 6 und unzählbaren Keimen pro 1 ccm. Bei den Finnen betrug der Keimgehalt pro 1 ccm 16 bis zur Unzählbarkeit. Entsprechend dem größeren Keimgehalt der Finnenflüssigkeit waren auch die in derselben nachgewiesenen Bakterienarten mannigfaltiger. Während bei den Echinokokken im großen und ganzen mehr Kokken (Staphylokokken, Tetraden und Sarcinen) nachgewiesen wurden, prävalierten bei den Finnen Stäbchen verschiedener Art. Auffallend war bei dem *Cysticercus tenuicollis* der Schafe das häufige Vorkommen von diphtherieähnlichen, nach Gram sich färbenden Stäbchenarten, während bei den dünnhalsigen Finnen des Schweines kleine schweineseucheähnliche, bipolar sich färbende Bakterien und Kokken sich vorfanden.

Nur ganz vereinzelt wurde eine Bakterienart in der Parasitenflüssigkeit in Reinkultur angetroffen.

Es wurden folgende Bakterien nachgewiesen und zwecks Feststellung ihrer biologischen Eigenschaften in Reinkultur gewonnen:

Staphylokokken.

Die Staphylokokken wurden fast in keinem Falle, weder bei Echinokokken noch bei Finnen, vermißt. Es wurden die bekannten vier Staphylokokkenarten:

St. albus, *St. aureus*, *St. citreus* und *St. flavus* aus dem Echinokokken- und Cysticerkeninhalte isoliert. Entsprechend der obigen Reihenfolge war die Häufigkeit des Nachweises der ihrer Farbe nach verschiedenen Staphylokokkenarten. Isoliert zeigten dieselben die bekannten morphologischen und kulturellen Eigenschaften. Die einzelnen Kokken waren 0,7—1,0 μ groß, von runder Gestalt, grupperten sich in Kulturausstrichen in Weintraubenform oder zeigten kurz nach der Teilung diplokokkenartige Lagerung. Sie färbten sich leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram. Auf der Gelatineplatte bildeten sich je nach der Art weiße, goldgelbe oder schwachgelbe, runde Kolonien von mäßigem Umfang, die scharfrandig und zentral grob granuliert waren. Nach Verlauf von etwa 2 Tagen trat Verflüssigung ein und die Kolonien sanken in der verflüssigten Gelatine zusammen. Im Gelatinestich wuchsen die Staphylokokken in Form eines Nagels. Auf der Oberfläche der Gelatine, rings um die Einstichstelle, bildete sich ein runder, knopfähnlicher, glänzender Belag, und im Impfstich ein gekörnter Impffaden. Die Verflüssigung trat am oberen Teile des Impfstiches zuerst ein, und es entwickelte sich allmählich eine strumpfartige Verflüssigung der Gelatine. Auf der Agarplatte bildeten sich nach 48 Stunden 2—3 mm im Durchmesser betragende, reinweiße bzw. goldgelbe und stark glänzende Kolonien. Auf schrägem Agar entstand nach 24 Stunden längs des Impfstiches ein üppiger, weißer bzw. goldgelber, schleimiger, lackartig glänzender Belag mit etwas welligem Rande. Das Kondenswasser war ungetrübt, am Boden dagegen bildete sich ein grauweißer oder gelb gefärbter Bodensatz. Auf Kartoffeln entstand nach 24 Stunden eine weiße oder goldgelbe, flache Auflagerung, die bisweilen einen glänzenden, lackartigen Belag bildete. Bouillon war bereits nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt. Am Boden des Glases bildete sich ein weißer oder verschieden gelbgefärbter Niederschlag, der sich an den folgenden Tagen stark vermehrte. In steriler Milch wuchsen die Staphylokokken rasch und brachten dieselbe zum Gerinnen. Auf schräg erstarrtem Blutserum entwickelte sich ein spärlicher weißer bzw. goldgelber Belag von glänzendem, lackartigem Aussehen. Nach Verlauf von 2—3 Tagen trat längs des Impfstiches eine mehr oder weniger rasch erfolgende Peptonisierung des geronnenen Serums ein. Das Kondenswasser blieb klar; auf dem Grunde desselben bildete sich ein weißer bzw. goldgelber Niederschlag.

Auffallend war, daß bei dem *Staphylococcus flavus* und *St. citreus* die Verflüssigung der Gelatine spät, und zwar erst nach 8—10 Tagen, eintrat, und daß zu eben derselben Zeit auch erst bei der Kultivierung in steriler Milch Gerinnung derselben beobachtet werden konnte.

Die pathogenen Eigenschaften der isolierten Staphylokokkenarten wurden an kleinen Versuchstieren, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen, geprüft. Nach subkutaner Injektion von Meerschweinchen und Kaninchen entwickelte sich regelmäßig ein Absceß, in dem die Staphylokokken in Reinkultur vorhanden waren. Nach spontaner oder künstlicher Eröffnung heilten die Abscesse ab. Bei weißen Mäusen trat nach subtaner Infektion nach Verlauf von 2—3 Tagen der Tod ein. Die

Sektion ergab Septikämie und seröse bis gallertartige Infiltrationen des Unterhautbindegewebes an der Impfstelle. Die intravenöse Injektion von 1 ccm Bouillonkultur bei Kaninchen verursachte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Bemerkt sei, daß sehr oft große Monokokken nachgewiesen und isoliert wurden, die ein den Staphylokokken ähnliches Wachstum zeigten, jedoch Gelatine und Serum nicht verflüssigten.

Micrococcus tetragenus.

Der *Micrococcus tetragenus* ist ebenfalls häufig nachgewiesen worden. Derselbe zeigte bei vorsichtiger Färbung die Gruppierung zu je 4 etwa $1\ \mu$ großen Kokken. Die Kokken wuchsen üppig auf den gebräuchlichen Nährböden in Gestalt von gelbweißen Kolonien; auf Gelatine, die nicht verflüssigt wurde, trat reichliches Wachstum längs des Impfstiches und auf der Oberfläche ein. Auf Agar bildete sich ein üppiger, graugelblicher, rahmartiger Belag. Auf Kartoffeln entstanden schleimige, grauweiße oder graugelbe, fadenziehende Beläge.

Zwei Mäuse, welche mit 0,1 und 0,5 ccm 24-stündiger Bouillonkultur subkutan geimpft wurden, gingen nach 24 Stunden ein. In Ausstrichen vom Herzblute und von dem eitrig-schleimigen Exsudat an der Impfstelle zeigten sich die Tetraden von einer nicht gefärbten Hülle umgeben. In den aus dem Herzblute angelegten Kulturen ging der *Micrococcus tetragenus* in Reinkultur auf.

Sarcina lutea.

Die von mir im Inhalte der Echinokokken und Cysticerken gefundenen Sarcinen färbten sich leicht mit Anilinfarben und auch nach Gram. Die Größe der Zellen, die sich zu 8 zu einem Warenballen vereinigten, betrug $2,0\ \mu$. Auf Agar bildeten die Sarcinen bei Brutschranktemperatur nach Verlauf von 24 Stunden einen außerordentlich üppigen Belag von hellgelber Farbe. Gelatine wurde verflüssigt. Die mit einer Oese Kulturmasse der *Sarcina lutea* subkutan geimpften Mäuse blieben am Leben.

Bacterium coli.

Stäbchen mit den charakteristischen morphologischen und biologischen Eigenschaften des *Bact. coli* wurden sehr oft in den Cysticerken und Echinokokken nachgewiesen. Es handelte sich um ziemlich plumpe, an den Enden abgerundete Stäbchen von $2\text{--}3\ \mu$ Länge, die in flüssigen Medien mitunter zu längeren Stäbchen auswuchsen. Die Stäbchen waren beweglich und bildeten keine Sporen. Sie färbten sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben, jedoch nicht nach Gram. Ich habe jedoch mehrere Male coliartige Stäbchen nachgewiesen und isoliert, welche die Gramsche Färbung annahmen. Die Stäbchen wuchsen üppig auf allen gebräuchlichen Nährböden. Auf Lackmusmilchzucker-Kristallviolett-Agar wuchsen die Stäbchen in roten, saftigen Kolonien. Auf Agar wuchs das *Bact. coli* in Gestalt von grauweißen glänzenden Kolonien, die zu einem ebensolchen Belage konfluieren. Gelatine wurde nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln entstand ein dicker, saftiger Ueberzug von gelblichbrauner Farbe. Milch wurde nach 24 Stunden zur Gerinnung gebracht.

In Bouillon zeigte sich starke, gleichmäßige Trübung; es bildete sich ein Oberflächenhäutchen. Traubenzucker- und Milchzucker-Bouillon wurden unter lebhafter Gas- und Säurebildung vergoren. In 24-stündiger Bouillonkultur trat bei Zusatz von 1 ccm $\frac{1}{10}$ -proz. wässriger Lösung

von Kaliumnitrit (auf 10 ccm Kulturflüssigkeit) und von wenigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure Rotfärbung ein (Indolreaktion). 2 Mäuse, die mit einer Colibakterienaufschwemmung subkutan geimpft wurden, verendeten nicht.

Proteus vulgaris.

Als solchen möchte ich coliartige, lebhaft bewegliche, sporenlose Stäbchenformen ansprechen, die sich in den Kulturen durch einen äußerst unangenehmen Geruch auszeichneten und Gelatine schnell verflüssigten. Auf der Gelatineplatte bildeten sich Kolonien, deren Verflüssigungszone sich in gewundenen Ausläufern in die noch feste Gelatine fortsetzte.

Schweineseucheähnliche Stäbchen.

Schweineseucheähnliche Bakterien mit allen Eigenschaften der zu der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehörigen pathogenen und nicht-pathogenen Stäbchenarten fanden sich besonders beim Schweine sowohl in der Flüssigkeit des *Cysticercus cellulosae* wie in der des *Cysticercus tenuicollis* vor. Die kleinen Stäbchen waren sporenlos und färbten sich leicht mit Anilinfarben. Sie nahmen an den Polen den Farbstoff besser auf als im Mittelstücke, und zeigten somit Gürtelbakterienform. Sie färbten sich aber nicht nach Gram. Auf Agar wuchsen die Stäbchen in kleinen, bläulich-weißen, irisierenden Kolonien, die bei dichtem Wachstum zu einem dünnen, bläulich-weißen Belage konfluieren. In Bouillon trat mäßige Trübung ein, und es bildete sich ein mäßig dicker Bodensatz, der beim Schütteln zopfartig aufwirbelte. Lackmusmolke wurde in ihrem Aussehen nicht verändert; in zuckerhaltiger Bouillon trat keine Gärung ein. 6 subkutan geimpfte Mäuse starben nach 24—48 Stunden. In Ausstrichen aus dem Herzblute und aus dem Infiltrat an der Impfstelle fanden sich in größerer Zahl jene bipolar sich färbenden Stäbchen, welche in den aus dem Herzblut angelegten Kulturen in Reinkultur aufgingen.

Diphtherieähnliche Stäbchen.

Die diphtherieähnlichen Bakterien wurden, wie bereits erwähnt, häufig in den dünnhalsigen Finnen des Schafes gefunden. Es waren schlanke Stäbchen von 4—6 μ Länge, welche sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch nach Gram färbten. In Ausstrichpräparaten lagen sie palisadenartig nebeneinander oder wie Reisigbündel unregelmäßig neben- und übereinander. Sie färbten sich ungleichmäßig derartig, daß kokkenartige und bacillenförmige Teilstücke abwechselten. An einem Ende zeigten die Stäbchen sich zugespitzt. In älteren Kulturen traten pleomorphe, bizarre Stäbchenformen mit kolbig verdickten Enden auf. Auf Schrägagar wuchsen die Stäbchen in Gestalt von kleinen, trockenen Kolonien mit fein granuliertem Zentrum und dünnem, durchsichtigem Rande. Besser und üppiger war das Wachstum auf schräg erstarrtem Serum. Gelatine wurde nicht verflüssigt. Bei der Züchtung des Pseudodiphtheriebacillus in Bouillon entstand eine Trübung derselben unter gleichzeitiger Bildung eines mäßigen, krümeligen Bodensatzes. In traubenzuckerhaltigen Nährböden trat keine Gas- und Säurebildung ein.

4 Mäuse, mit 0,5 ccm und 0,1 ccm Aufschwemmung einer Agarkultur der diphtherieähnlichen Stäbchen subkutan geimpft, verendeten nach 24 Stunden. Im Herzblut wurden mikroskopisch und kulturell diphtherieähnliche Stäbchen in Reinkulturen nachgewiesen. Bei Meer-schweinchen zeigten sich die Stäbchen nicht pathogen.

Streptococcus brevis.

Streptokokken als solche fand ich im Materialausstriche in 6—10-gliedrigeren Ketten. Sie färbten sich leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben. Die Färbung nach Gram gelang nur, wenn die Entfärbung in Alkohol nicht mehr als 15—20 Sekunden dauerte. Auf Agar wuchsen die Streptokokken in Gestalt von kleinen, stecknadelkopfgroßen, bläulich-weißen Kolonien, die nur geringe Tendenz zur Konfluenz zeigten. Im Kondenswasser bildete sich ein schleimiger oder fadenförmiger Bodensatz von mäßigem Umfange; auf Gelatine war das Wachstum ein sehr langsames und kümmerliches. Am besten wuchsen sie noch im Gelatine-stich in Form von kleinen, weißen, stecknadelkopfgroßen Kolonien längs des Impfstiches. Verflüssigung trat nicht ein. Während die Streptokokken auf den festen Nährböden die Gestalt von Diplokokken zeigten, wuchsen sie in flüssigen Medien, namentlich in Bouillon, zu Ketten aus, die jedoch meist aus weniger wie 20 Gliedern bestanden. Auf Kartoffeln habe ich mehrere Male mikroskopisch sichtbares Wachstum beobachtet. Die isolierten Streptokokken zeigten sich nicht pathogen bei Mäusen und Meerschweinchen.

Stäbchen aus der Heu- und Wurzelbacillengruppe.

Sporenbildende Stäbchen aus der Heu- und Wurzelbacillengruppe fanden sich sehr oft vor. Sie färbten sich leicht mit Anilinfarben und nach Gram. Die Stäbchen wuchsen auf den gebräuchlichsten Nährböden mit der ausgesprochenen Tendenz zum Oberflächenwachstum, und bildeten mittelständige und endständige Sporen.

Gelatine wurde schnell verflüssigt, wobei sich ebenso wie auf Bouillon eine Kahlhaut bildete. Auf Agar bildeten diese Stäbchen eine dicke, trockene, spröde, aus einzelnen Schuppen bestehende, weiße Haut, die sich in Falten legte; Bouillon wurde getrübt; nach 24 Stunden bildete sich eine Kahlhaut. Auf Kartoffeln entstand ein weißgrauer, rahmartiger Belag.

Zwei Mäuse, die ich mit Bakterienkultur dieser Gruppe impfte, zeigten in ihrem Befinden keine Aenderung.

Die chemische Zusammensetzung der Flüssigkeit in den Echinokokken und Cysticerken.

Es lag in dem Rahmen meiner Arbeit, über die chemische Zusammensetzung des flüssigen Inhalts der Echinokokken- und Cysticerkenblasen Klarheit zu gewinnen. Denn die durch die Wurmbrut aus dem Darmrohr in das Innere des Körpers verschleppten Bakterien müssen sich in der den Parasiten umgebenden Flüssigkeit vermehren können. Sie müssen in dieser alle zum Wachstum und zur Ernährung erforderlichen Nährstoffe vorfinden, um auf die Parasiten durch ihre Zahl schädlich einwirken und sie schließlich zum Absterben bringen zu können.

Analytische Untersuchungen über die Echinokokkenflüssigkeit liegen in der Literatur in größerer Zahl vor, während ich von solchen über die Cysticerkenflüssigkeit nur zwei feststellen konnte. Die Ursache hierfür ist wohl darin zu suchen, daß die durch die Invasion von Echinokokken beim Menschen bedingte Krankheit frühzeitig das Interesse der Pathologen in Anspruch nahm. Außerdem machte man verschiedentlich bei derartig erkrankten Menschen die Beobachtung, daß das Bersten von Leberechinokokken mit Erguß des Blaseninhaltes in die Leibeshöhle des Parasitenträgers den Tod desselben zur Folge hatte.

Die mit diesen Rupturen verbundenen Todesfälle gaben der Erwägung Raum, ob vielleicht in der Flüssigkeit der Echinokokken Toxine vorhanden sind, welche beim Erguß in die Leibeshöhle die Gesundheit des Parasitenträgers schädigen bzw. den Tod herbeiführen könnten.

Aus der großen Zahl der Untersuchungen über die Zusammensetzung, Beschaffenheit und Wirkung der Echinokokkenflüssigkeit führe ich die Analysen von Heinz¹⁾, Bödecker²⁾ und Frerichs³⁾ als bemerkenswert an.

Was zunächst das spezifische Gewicht und den Gehalt der Echinokokkenflüssigkeit an festen Bestandteilen anbelangt, so sind die Angaben dieser drei Autoren ziemlich übereinstimmend. Das spezifische Gewicht der Echinokokkenflüssigkeit ist im Durchschnitte 1,007—1,01, der Gehalt an festen Stoffen beträgt durchschnittlich 1,5 Proz. und der des Wassers 98,5 Proz.

Bödecker (l. c.) beschreibt die von ihm analysierte Echinokokkenflüssigkeit als farblos, wasserklar, von salzigem, fadem Geschmack und neutraler Reaktion.

v. Recklinghausen⁴⁾ hat bezüglich des spez. Gewichtes und des Gehaltes an festen Bestandteilen höhere Werte gefunden. Er gibt als spezifisches Gewicht 1,015, als Prozentsatz der festen Stoffe 2,002, demnach den des Wassergehaltes auf 97,998 an.

Diese Angaben finden aber ihre Erklärung offenbar in der Beschaffenheit der von v. Recklinghausen untersuchten Echinokokkenflüssigkeit, die aus einem Leberechinococcus stammte. Dieselbe war schwach sauer, nicht gefärbt, aber trübe, und enthielt kleine Flocken suspendiert.

In 100 Gewichtsteilen Echinokokkenflüssigkeit fanden:

a) Heinz	b) Bödecker	c) Frerichs
0,385 Proz. Chlornatrium	0,52 Proz. Chlornatrium	0,19 Proz. Natriumalbuminat
0,024 „ Chlorkalium	1,08 „ bernsteinsaur.	0,05 „ Fett
0,046 „ Chlorcalcium	Natron und bernsteins.	0,26 „ Extraktivstoffe
0,020 „ Chlormagnesium	Kalk mit wenig glykocholsaur. Natron und	0,83 „ Chlornatrium, schwefel- und phosphors. Natr.
0,0341 Proz. bernsteinsaur. Natrium	sehr wenig schwefelsaurem Kali	0,07 Proz. kohlen. Kalk
0,508 Proz. Extraktivstoffe	98,40 Proz. Wasser	0,01 „ Erdphosph.
98,678 „ Wasser		98,56 „ Wasser

Durch analytische Untersuchungen der Echinokokkenflüssigkeit in den 70er Jahren des vorigen Jahrhunderts [A. Heller⁵⁾, Rosenstein und Saenger⁶⁾, Jacobsen⁷⁾, Naunyn⁸⁾ u. a.] sind außer dem reichlichen Vorhandensein von NaCl, phosphorsaurem und bernsteinsaurem

1) Heinz, W., Ueber das Vorkommen der Bernsteinsäure im menschlichen Körper, zit. in Poggendorfs Annalen der Physik. 1850. p. 114.

2) Bödecker, Bernsteinsäure in der Flüssigkeit einer Lebercyste, zit. in Henles und Pfeufers Zeitschr. für rationelle Medizin. Neue Folge 7 u. 8. 1855—57. p. 117.

3) Frerichs, Analyse der Echinokokkenflüssigkeit, ref. in Wiegmanns Arch. f. Naturgesch. Bd. I. 1848.

4) v. Recklinghausen, E., Ueber Echinokokkenflüssigkeit, ref. in R. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. 14. 1858.

5) Heller, A., Echinokokken, ref. im Lehrb. d. spez. Pathol. u. Therap. d. Invasionskrankh. u. d. Zoonosen v. Ziemssen. 2. Aufl. Leipzig 1876.

6) Rosenstein u. Saenger, Ein Fall von geheiltem Milzechinococcus. (Berl. klin. Wochenschr. 1873. No. 20.)

7) Jacobsen s. wie 5) Heller, A.

8) Naunyn, Ueber Echinokokkenflüssigkeit, zit. nach Joest, E., Studien über Echinokokken- und Cysticerkenflüssigkeit. (Zeitschr. f. Infektionskrankh., parasitäre Krankh. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. 2. 1907.)

Na und Ca noch Eiweiß in geringer wechselnder Menge und die Abbau-
produkte desselben, Leucin, Tyrosin, sowie Traubenzucker und Inosit
nachgewiesen worden.

Nach Braun¹⁾ ist die Echinokokkenflüssigkeit leicht gelblich gefärbt,
reagiert neutral oder schwach sauer und hat ein spezifisches Gewicht
von 1,009—1,015. Sie enthält zu 1,5 Proz. anorganische Salze, davon
zur Hälfte Kochsalz, außerdem neben Wasser noch Zucker, Leucin,
Tyrosin, Bernsteinsäure, an Kalk oder Natron gebunden, und Spuren
von Albumin. Gelegentlich sind auch Hämatoidin und harnsaure Salze
gefunden worden (bei Echinokokken der Nieren), was nach Brauns
Ansicht wohl sicher darauf hinweist, daß die Echinokokkenflüssigkeit aus
dem Blute des Parasitenträgers herrührt. Braun und andere Autoren
[Mourson²⁾ und Schlagdenhaufen³⁾] geben außerdem noch an, daß
in der Echinokokkenflüssigkeit Stoffe mit giftigen Eigenschaften (Leuko-
maine) enthalten sind, die, in die Leibeshöhle von Versuchstieren ein-
gespritzt, eine in der Regel tödlich verlaufende Peritonitis verursachen.
Joest (l. c.), der hierüber Nachprüfungen anstellte, hat dieses nicht
bestätigen können. Er gibt an, daß die Echinokokken- und auch die
Cysticerkenflüssigkeit bei subkutaner, intraperitonealer und intravenöser
Injektion auf kleine Haustiere keinerlei krankmachende Wirkung auf
diese auszuüben vermag. Die Flüssigkeiten genannter Parasiten enthalten
somit keine giftigen Stoffe (Präzipitine). Das gilt sowohl für ausgebildete
als auch für noch in Entwicklung begriffene Parasitenblasen.

Das Blutserum echinokokkenkranker Tiere besitzt keine präzipitie-
rende Wirkung auf die Echinokokkenflüssigkeit. Auch durch systematische
Immunisierung von Versuchstieren mit Echinokokken- und Tenuicollis-
flüssigkeit läßt sich kein spezifisches präzipitierendes Serum gewinnen.
Es ist daher anzunehmen, daß die Flüssigkeiten der genannten Blasen-
würmer nicht geeignet sind, ein nachweisbares Präzipitinprodukt im
Tierkörper auszulösen.

Ueber die chemische Zusammensetzung der Schwanz-
blasenflüssigkeit von Cysticerken (*Cysticercus tenui-*
collis) liegen nur zwei Untersuchungen vor.

Nach Mourson und Schlagdenhaufen⁴⁾ enthält die Flüssigkeit
des *Cysticercus tenuicollis* relativ beträchtliche Mengen Albumin.

Frerichs⁵⁾ gibt an, daß die Flüssigkeit des *Cysticercus tenui-*
collis

Wasser	96,66 Proz.
Albumin	0,28 "
Fett (Olein)	0,03 "
Extraktivstoffe	} 3,08 "
Salze (Chlornatrium)	
phosphorsaures und schwefel-	
saures Natron	
sowie in gewisser Menge Erd-	
phosphate	

enthält.

1) Braun, Die Parasiten des Menschen. 3. Aufl. p. 234.

2) Mourson, zit. nach Joest. Vgl. unter 8) auf p. 24.

3) Schlagdenhaufen, zit. nach Joest. Vgl. unter 8) auf p. 24.

4) Mourson u. Schlagdenhaufen, zit. nach Joest. Vgl. unter 8) auf p. 24.

5) Frerichs, Chemische Zusammensetzung der Tenuicollisflüssigkeit, ref. in
Wiegmanns Arch. f. Naturgeschichte. Bd. I. 1848.

Eigene Untersuchungen.

An den Flüssigkeiten der Echinokokken und Cysticerken sind bei ersteren von mir, bei letzteren von Herrn Dr. v. d. Heide Bestimmungen des spezifischen Gewichtes, der festen Bestandteile, des Zucker- und Eiweißgehaltes vorgenommen worden. Fernerhin wurden auch qualitative und quantitative Bakterienbestimmungen aus diesen Flüssigkeiten ausgeführt.

Bei den Bestimmungen des spezifischen Gewichtes bediente ich mich des pyknometrischen Verfahrens. Ich stellte von 100 ccm Echinokokkenflüssigkeit, dem Gemisch aus verschiedenen Blasen verschiedener Tiere, das spezifische Gewicht fest. Dasselbe betrug in

Probe 1	1,012000
" 2	1,019800
" 3	1,015800
" 4	1,014800

Das mittlere Gewicht beträgt also 1,015600.

Die Probe 2, etwas rötlich gefärbt, fiel dem Gewichte nach wohl deshalb höher aus, weil derselben rote Blutkörperchen beigemischt waren.

Die festen Bestandteile der Echinokokkenflüssigkeit wurden durch Verdampfen von 100 ccm Flüssigkeit im Wasserbade bestimmt. Der Rückstand wurde hiernach im Trockenschrank zum vollkommenen Eintrocknen gebracht, im Exsikkator über Chlorcalcium abgekühlt und dann gewogen.

Ich erhielt hierbei aus 3 Proben, welche ebenfalls das Gewicht des Inhaltes verschiedener Echinokokken aus verschiedenen Tieren darstellten, folgendes Resultat:

Probe 1	1,620 g
" 2	1,640 "
" 3	1,580 "

Das mittlere Gewicht der festen Bestandteile betrug demnach 1,613 g.

Der Zuckergehalt der Echinokokkenflüssigkeit wurde durch Vergären im Präzisionsgärungssaccharometer nach Lohnstein festgestellt. In 4 Proben schwankte der Zuckergehalt zwischen 0,1—0,2 Proz.

Zur Feststellung des Eiweißgehaltes bediente ich mich der Aufschichtungsmethode. Ich füllte 3—5 ccm reine Salpetersäure in ein Reagensglas und ließ vorsichtig aus einer Pipette die zu untersuchende Echinokokkenflüssigkeit an der Wandung des Reagensglases herunterfließen. Bei Vorhandensein von Eiweiß in der zu untersuchenden Flüssigkeit bildet sich alsdann bekanntlich eine mehr oder weniger deutliche, weiße, ringartige Trübung.

Im ganzen untersuchte ich den Inhalt von 12 Echinokokkenblasen, der von ebensoviel verschiedenen Tieren stammte, und stellte fest, daß der Eiweißgehalt sehr schwankte.

In 3 Fällen war die Reaktion auf Eiweiß negativ. Stets fiel mir auf, daß mit der verschiedenen Menge des Eiweißgehaltes der Bakteriengehalt in der Flüssigkeit parallel ging: Je mehr Eiweiß in den Echinokokkenflüssigkeiten vorhanden war, desto zahlreicher waren auch die Bakterienarten auf den Agarplatten, die mit gleichbleibenden Mengen Echinokokkenflüssigkeit besät worden waren.

Das Resultat dieser Untersuchung gibt nachstehende Tabelle wieder (p. 74).

Die Reaktion der Echinokokkenflüssigkeit, ganz frisch verwandt und t Lackmuspapier geprüft, war amphoter, nach kurzem Stehen schwach alkalisch.

Lfd. No. der Proben	Zahl der Kolonien, welche auf den mit 1 ccm Echinokokken- flüssigkeit besäten Platten aufgingen	Eiweißgehalt der Echinokokken- flüssigkeit
1	54	Spuren Eiweiß nachweisbar
2	200	Mäßiger Eiweißgehalt
3	11	Eiweiß nicht nachweisbar
4	360	An der Berührungsstelle der Salpeter- säure und der darüberstehenden Echinokokkenflüssigkeit hat sich ein 2 cm breiter, weißer, ringförmiger Niederschlag gebildet
5	6	Kein Eiweiß nachweisbar
6	20	Geringe Spuren Eiweiß nachweisbar
7	5	Eiweißprobe negativ
8	1000	Flüssigkeit stark milchig-weiß getrübt
9	12	Geringe Spuren Eiweiß nachweisbar
10	400	Starker Eiweißausfall
11	500	Starke Trübung der Flüssigkeit
12	1200	Starker flockiger Eiweißausfall

Von dem flüssigen Inhalt der verschiedenen Cysticerkenarten interessierte mich in erster Linie die des *Cysticercus tenuicollis*, weil diese sich stets stark bakterienhaltig gezeigt hatte. Eine vollständige Analyse dieser Flüssigkeit wurde, wie schon eingangs erwähnt, von Herrn Dr. v. d. Heide vorgenommen. Das Resultat dieser Untersuchung, deren ausführliche Publikation sich Herr Dr. v. d. Heide vorbehält, faßt derselbe wie folgt zusammen:

„Das spezifische Gewicht der serösen Flüssigkeit des *Cysticercus tenuicollis* wurde pyknometrisch festgestellt, und zwar aus drei verschiedenen Sendungen. Jede Sendung betrug ca. 500 ccm Flüssigkeit und war das Gemisch des Inhaltes einer größeren Anzahl Cysticerkenblasen. Das spezifische Gewicht betrug von

Probe 1 1,009442
 „ 2 1,009354
 „ 3 1,009368

Danach ist das mittlere spezifische Gewicht 1,009388.

Die Trockensubstanz ergab aus 100 ccm

der Probe 1 = 1,7108 g

„ 2 = 1,7121 „

also beträgt das mittlere Gewicht der Trockensubstanz in 100 ccm *Tenuicollis*flüssigkeit 1,7115, was gleichbedeutend ist mit 1,695 Gewichtsprozenten. [Demnach wurde durch v. d. Heide ungefähr halb so viel Trockensubstanz in der Cysticerkenflüssigkeit festgestellt, wie Frerichs (l. c.) angibt.]

Die *Tenuicollis*flüssigkeit enthält somit 98,305 Proz. Wasser.

Bei der Veraschung ergaben sich als Mineralbestandteile aus 100 ccm 0,8048 g = 0,797 Gewichtsprozent.

In 100 ccm Flüssigkeit wurde nach Kjeldahl¹⁾ der Stickstoff bestimmt. Aus zwei Bestimmungen ergab sich ein Gehalt von 81 mg Stickstoff = 0,08 Proz. Indessen sind diese 81 mg Stickstoff nicht völlig im Eiweiß vorhanden, denn die Eiweißbestimmung nach Stutzer²⁾ mit

1) Kjeldahl, Chem. Centralbl. Bd. 16. p. 17 u. 113.

2) Stutzer, Journ. f. Landwirtschaft. 1881. p. 473.

Hilfe aufgeschwemmten Kupferhydroxyds ergab 28,8 und 27,6 mg Stickstoff.

Der ätherische Auszug der Tenuicollisflüssigkeit wurde mittelst eines Extraktionsapparates nach C. v. d. Heide¹⁾ bestimmt.

Der Aetherauszug aus 100 ccm Flüssigkeit ergab 0,5989 g Rückstand, in dem zum größten Teil Fette vorhanden sein dürften.

In dem Rückstand ist außerdem Bernsteinsäure prozentual in ganz erheblicher Menge nachgewiesen worden. Sie wurde nach einem modifizierten Verfahren nach C. v. d. Heide (l. c.) bestimmt, und es ergab sich, daß in 100 ccm Tenuicollisflüssigkeit 0,0889 g (d. i. 5,24 Proz. der Trockensubstanz) Bernsteinsäure vorhanden war. Die in 3 Fällen vorgenommene Prüfung der Flüssigkeit auf Zuckergehalt nach Allihn²⁾ war negativ.

Außerdem wurden erhebliche Mengen Asparaginsäure nachgewiesen.“

Was den Eiweißgehalt anbelangt, so habe ich ausnahmslos die Tenuicollisflüssigkeit in einer großen Zahl von Untersuchungen eiweißhaltig gefunden. Im Vergleich zu den Echinokokkenflüssigkeiten erwies sich die Schwanzblasenflüssigkeit der Tenuicollen viel eiweißhaltiger und enthielt dementsprechend auch stets mehr Bakterien wie die ersteren.

In nachstehender Tabelle ist das Resultat dieser Untersuchung zusammengefaßt:

Lfd. No. der Proben	Zahl der Kolonien, welche auf den mit 1 ccm Tenuicollisflüssigkeit besäten Platten aufgingen	Eiweißgehalt der Tenuicollisflüssigkeit
1	411	starker Eiweißausfall
2	120	mäßiger Eiweißausfall
3	174	erhebliche Eiweißmengen
4	190	mittelmäßiger Eiweißgehalt
5	110	mäßiger Eiweißgehalt
6	410	beträchtlicher Eiweißausfall
7	2400	Flüssigkeit in toto flockig getrübt
8	4200	Flüssigkeit flockig getrübt
9	unzählige Kolonien	dicker, flockiger Eiweißausfall, dann gänzliche Trübung
10	350	starker Eiweißausfall
11	400	erhebliche Trübung
12	Platte dicht besät mit unzähligen Kolonien	Flüssigkeit gänzlich dickflockig getrübt.

Obgleich schon aus der Analyse der Echinokokken- und Cysticerkenflüssigkeiten hervorgeht, daß diese alle zum Bakterienwachstum erforderlichen Stoffe (stickstoffhaltige Stoffe, Kohlehydrate und Salze) enthalten, so stellte ich dennoch folgenden Kontrollversuch an:

Durch Aufschwemmung von je 1 Oese Reinkultur in Bouillon stellte ich eine Mischkultur von *Staphylococcus albus* und *aureus*, *Bact. coli* und diphtherieähnlichen Stäbchen her und übertrug von dieser Mischkultur je 3 Platinösen in je 5 ccm sterile Bouillon und in sterilisierte Echinokokken- bzw. Tenuicollisflüssigkeit. Diese 3 Röhrchen wurden 48 Stunden im Thermostaten bei 37,5° C belassen. Dann bestimmte ich den Keimgehalt der 3 Kulturröhrchen in der bekannten Weise, durch entsprechende Verdünnung gleicher Mengen Kultur mit

1) v. d. Heide, C., Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1909. p. 291.

2) Allihn, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 20. p. 434.

gleichen Mengen sterilen Wassers und Plattenaussaat. Nach 24 Stunden wurden die auf den Agarplatten aufgegangenen Kolonien gezählt, und es stellte sich bei mehrfacher Wiederholung des Versuches heraus, daß die Parasitenflüssigkeiten ein gutes Kulturmedium für Bakterien waren, wenn auch nicht in dem Maße wie Bouillon. Die Mischkultur in der Tenuicollisflüssigkeit enthielt im Durchschnitte $\frac{1}{2}$, die in der Echinokokkenflüssigkeit $\frac{1}{3}$ der Anzahl der Keime, welche sich in der Bouillonkultur entwickelt hatten.

Auf Grund der chemischen Zusammensetzung der Schwanzblasenflüssigkeit des *Cysticercus tenuicollis* und des Blaseninhaltes der Echinokokken, sowie des obigen Kulturversuches ist es als erwiesen anzusehen, daß die mit der Wurmbrut vom Darne aus verschleppten Bakterien in der Schwanzblasenflüssigkeit der Parasiten sich ausgezeichnet vermehren können. Dieses Untersuchungsergebnis in Verbindung mit der Feststellung, daß der flüssige Inhalt der Echinokokken und Cysticerken sich bei meinen Untersuchungen stets, und zwar gar nicht selten stark bakterienhaltig erwiesen hat, berechtigt zu der Annahme, daß die regressiven Veränderungen und das hierdurch bedingte Absterben der Echinokokken und Cysticerken auf die Einwirkung von Bakterien zu beziehen ist.

Bewiesen wird diese Annahme weiterhin durch den anatomischen Befund der in Vereiterung oder Verkäsung begriffenen Echinokokken und Cysticerken.

Auf den makroskopischen Befund näher einzugehen, erübrigt sich, da ich den bereits in der Einleitung erwähnten Untersuchungsergebnissen anderer Autoren kaum etwas Neues hinzuzufügen in der Lage bin. Von den meisten Autoren wird angegeben, daß die regressiven Veränderungen in der Organhaut einsetzen, was ich nur bestätigen kann. In der Organhaut, der Trägerin von Blut- und Lymphgefäßen und somit gewissermassen der Matrix des umschlossenen Parasiten, können sich die entzündlichen Prozesse, die den regressiven Veränderungen zugrunde liegen, entwickeln, nicht aber in der gefäßlosen Tiermembran.

Die Entzündungsprozesse sind exsudativer, und zwar fibrinöser und eiteriger Natur, nehmen meist einen chronischen Verlauf und haben alsdann durch Bindegewebsneubildung eine Verdickung und Sklerosierung der Organhaut zur Folge.

Die Entzündung der Organhaut äußert sich anfangs durch eine fleckenweise oder diffuse Trübung derselben. Die exsudativen Entzündungsprodukte schlagen sich auf der Innenfläche der Organhaut in Form eines mehr oder weniger dicken, fibrinösen oder käsig-eiterigen Belages nieder, durch die die Tiermembran mit der Organhaut verklebt wird. In Ausstrichpräparaten dieser eiterigen oder fibrinösen Beschläge findet man neben vielen mono- und polynukleären Leukocyten und Gewebs-trümmern Bakterien verschiedener Art, stets aber Eiterkokken (vergl. Tabelle p. 12—18).

Es ist ohne weiteres verständlich, daß durch den mehr oder weniger heftigen Entzündungsprozeß, der durch die verschiedenartigen in den Echinokokken und Cysticerken nachgewiesenen Bakterien oder deren Toxine hervorgerufen wird und der in der das Ernährungsmaterial für den Parasiten liefernden Organhaut abläuft, dieser in Mitleidenschaft gezogen und schließlich zum Absterben gebracht werden kann.

Zunächst wird sich die nachteilige Wirkung dieser Entzündungsprozesse in der den Parasiten umgebenden Tiermembran geltend machen.

Dieselbe fällt allmählich der Koagulationsnekrose anheim und damit hört auch die weitere Sezernierung und Ergänzung der Schwanzblasenflüssigkeit auf. Der flüssige Inhalt der Tiermembran verschwindet allmählich durch Resorption, die Blasenwand kollabiert, es tritt Schrumpfung, Mazeration, Inspissation und Verfettung der Parasitenüberreste und weiterhin Ablagerung von Kalksalzen ein.

Es ist anzunehmen, daß durch weitere regressive Veränderungen und Resorption der abgestorbenen Parasitenherde diese schließlich vollständig wieder verschwinden können, wie dieses Ostertag (l. N. c.) experimentell für den *Cysticercus inermis* nachgewiesen hat.

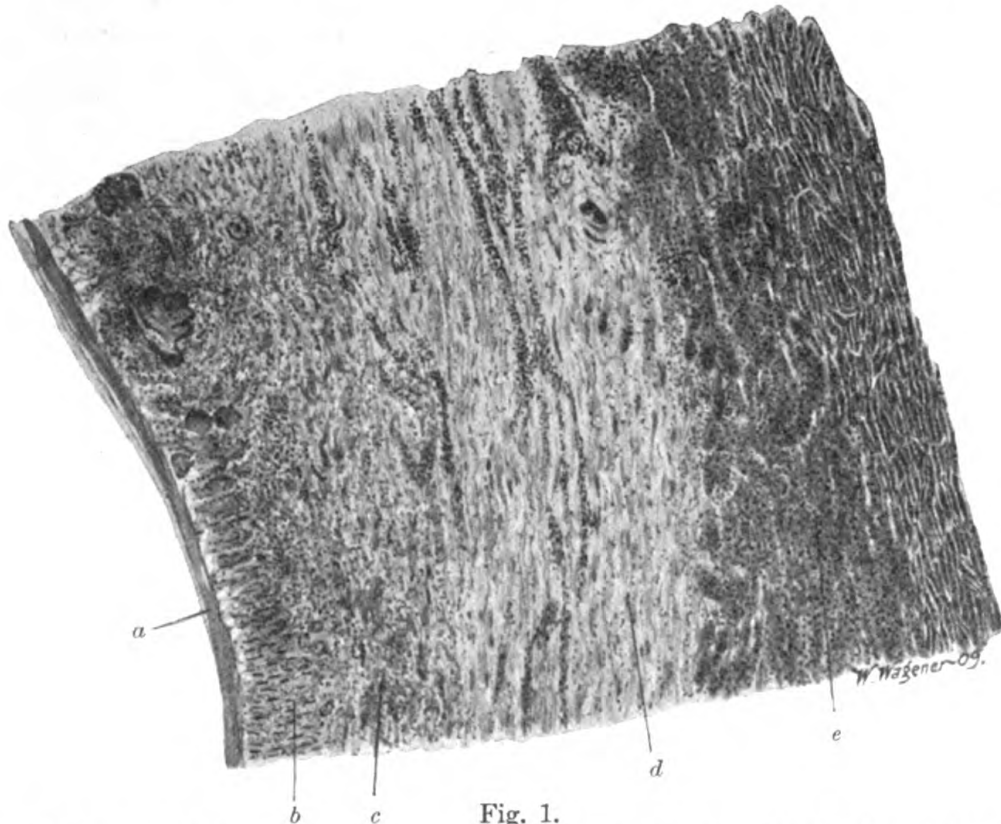


Fig. 1.

Fig. 1. Durchschnitt durch einen in Verkäsung begriffenen, haselnußgroßen *Leberechinococcus* des Rindes. (Zeiss, Oc. 4 Obj. A.) *a* Cuticularschicht. Lamellöser Bau nur undeutlich zu erkennen. Die innere Parenchymzellenschicht ist in einen Detritus aufgelöst. *b*, *c* und *d* Die einzelnen Schichten der Organhaut. *b* Radiäre Spindelzellen- und Riesenzellenschicht. *c* Rundzellenschicht. *d* Fibrilläre Bindegewebsschicht. *e* Lebergewebe (Druckatrophie).

Die histologische Untersuchung verkäster Echinokokken und Finnen ergibt deutlich, daß in der Organhaut ein exsudativer und produktiver Entzündungsprozeß infolge der Bakterieninvasion abläuft.

Die lege artis hergestellten und auf Objektträger aufgeklebten Schnittpräparate wurden mit Weigertschem Hämatoxylin gefärbt, hierauf mit 1-proz. wässriger Eosinlösung überfärbt und alsdann in verdünntem Alkohol differenziert. Nach Passieren der Alkoholreihe wurden die Präparate in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingebettet. Bei den verkästen Echinokokken ist der lamellöse Bau der Cuticularschicht der Tiermembran (Fig. 1*a*) meist nur noch undeutlich zu erkennen. Dieselbe nimmt wegen ihres Chitingehaltes die Tuberkelbacillenfärbung

an, ist also säurefest. An Stelle der Parenchymschicht ist eine sich nicht mehr färbende Detritusmasse vorhanden.

Die drei Schichten der mehr oder weniger stark verdickten Organhaut sind gut zu erkennen. Die innere Schicht, welche aus radiär — das ist senkrecht zur Oberfläche der Organhaut — gestellten Spindelzellen und aus Riesenzellen besteht — Radiärschicht — (Fig. 1 *b*), zeigt stellenweise eine Unterbrechung durch eingelagerte Rund- oder Epitheloidzellen. Die intermediäre Schicht — oder Rundzellenschicht (Fig. 1 und 2 *c*) — zeigt bereits eine meist auffallende Verbreiterung. In dieser Schicht finden sich neben Rund- oder Epitheloidzellen und spindelförmigen Bindegewebszellen (Fig. 2 *b s*) zerstreut und stellenweise in Gruppen zusammenliegend eosinophile Zellen (Leukocyten, Fig. 2 *e l*), welche einen und auch zwei meist runde, bläschenförmige, randständig gelagerte Kerne und 40—50 eosinophile Granula enthalten. Außerdem sind polynukleäre Leukocyten und Lymphocyten nachzuweisen. Auf die Intermediärschicht folgt die stark verdickte, aus mehreren Lagen bestehende Fibrillärschicht (Fig. 1 *d*, Fig. 2 *s s*). Die einzelnen mit Zellanhäufungen abwechselnden Bindegewebslagen und deren Spindelzellen verlaufen parallel mit der Oberfläche der Organhaut. Zwischen den Bindegewebslagen sieht man stellenweise eine Ansammlung von roten Blutkörperchen. Die Bindegewebschicht geht allmählich in das umliegende Gewebe über. In den Leberechinokokken läßt jedoch das Lebergewebe an der Grenze der Organhaut eine Lappchenzeichnung nicht erkennen, vielmehr haben die Leberzellenbalken eine der Bindegewebschicht ähnliche, zur Oberfläche der Organhaut parallele Lagerung angenommen. Auch zeigten die Leberzellen sich abgeflacht (Druckatrophie).

Zur Untersuchung der histologischen Verhältnisse bei zugrunde gegangenen Cysticerken benutzte ich in Verkäsung begriffene jugendliche Rinderfinnen (*Cysticercus inermis*). Die Färbung der Schnitte war dieselbe wie bei den Echinokokken.

Schon bei schwacher Vergrößerung tritt in der Organhaut die Zone der eosinophilen Zellen als eine kontinuierliche, rotgefärbte Intermediärschicht hervor, die den Finnenkörper ringförmig umgibt (Fig. 3 *e l*). An der Umschlagstelle, wo die eingestülpte Finne in den Finnenbalg übergeht (Fig. 3 *us*) und dieser der Organhaut eng anliegt, zeigt die Zone der eosinophilen Zellen eine auffallende Verbreiterung. Auch ist an dieser Stelle die äußere Rundzellenschicht (*rz*) besonders stark verbreitert, so daß dieselbe als Ganzes eine gewisse Aehnlichkeit mit einem Siegelring besitzt. Nach außen von der Rundzellenschicht liegen die auf der Fig. 3 quer durchschnittenen Primitivmuskelbündel (*mf*), welche sich von ersterer deutlich abheben. In dem der Fig. 3 zugrunde liegenden Durchschnitt durch eine im Absterben begriffene jugendliche Rinderfinne war diese noch ziemlich intakt. Die Parenchymzellen des Finnenkörpers, in dem Kalkkörperchen noch nicht zu erkennen waren, zeigten sich nur etwas gequollen und in ihrem Zusammenhang dadurch gelockert. In der Finnenflüssigkeit befand sich ein zelliger Detritus und die Tiermembran zeigte sich stellenweise zerfasert und gefaltet. In der dem Parasiten anliegenden inneren Schicht der Organhaut (Finnenbalg) und in der intermediären eosinophilen Zellschicht war junges faseriges Bindegewebe und in größerer Zahl waren Fibroblasten nachzuweisen. Es bestand demnach eine produktive Entzündung der Organhaut, die gerade bei den Rinderfinnen zu einer starken Verdickung und Sklerosierung des Finnenbalges und schließlich zur Verödung des Parasiten geführt hat.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen fasse ich in folgende Sätze zusammen:

1) Der flüssige Inhalt der Echinokokkenblasen und die Schwanzblasenflüssigkeit der Cysticerken, namentlich die des *Cysticercus tenuicollis*, sind in der Regel bakterienhaltig.

2) Die verschiedenen Bakterienarten werden vom Darne des Wirtes aus durch die einwandernde Wurmbrut in das Innere des Körpers verschleppt.

3) In der den Parasiten umgebenden Flüssigkeit, welche in letzter Linie aus dem Blute des Wirtstieres stammt und als ein Sekret der Tiermembran aufzufassen ist, finden sich gelöst stickstoffhaltige Substanzen, Kohlehydrate und Salze in einem für das Wachstum und die Vermehrung von Bakterien geeigneten Verhältnis.

4) Die regressiven Veränderungen und das Absterben der Echinokokken und Cysticerken werden durch die sich in diesen vermehrenden Bakterien hervorgerufen. Dieselben verursachen durch ihre Toxine exsudative (eitrige und fibrinöse) und produktive Entzündungsprozesse in der die Parasiten umgebenden Organhaut, wodurch diese in Mitleidenschaft gezogen werden und schließlich durch mangelnde Ernährung absterben und dem Gewebszerfall anheimfallen.

5) In den zugrunde gegangenen, inspissierten, verkästen und verkalkten Echinokokken und Cysticerken gehen schließlich auch die Bakterien zugrunde (Wassermangel!) und es können die Residuen solcher abgestorbenen Parasitenherde durch Resorption vollständig verschwinden, wie dieses Ostertag (l. c.) für die Rinderfinne experimentell nachgewiesen hat.

Tafelerklärung.

Fig. 2. Rundzellenschicht der Echinococcuskapsel mit starker Anhäufung von eosinophilen Zellen (Leitz, homog. Oel-Imm. Oc. 1 Obj. $\frac{1}{12}$) *el*; *bz* Fibroblasten, *C* Rundzellen, *sz* fibrilläre Bindegewebsschicht, parallel zur Oberfläche des Echinococcus verlaufend.

Fig. 3. Durchschnitt durch eine im jugendlichen Stadium im Absterben begriffene Rinderfinne. (Leitz, Oc. 3 Obj. 4.) *l* = In die Schwanzblase eingestülpter Finnenkörper, vereinzelte eosinophile Zellen enthaltend. *us* Umschlagstelle des Finnenkörpers in die Tiermembran. *el* intermediäre, zirkuläre, eosinophile Zellschicht. *rx* Rundzellenschicht, stark verdickt an der Umschlagstelle. *mf* Muskelfibrillen, quer durchschnitten.

Fig. 2.

Leitz, homog. Oel Imm.

Ocl. 1. Obj. 14z.

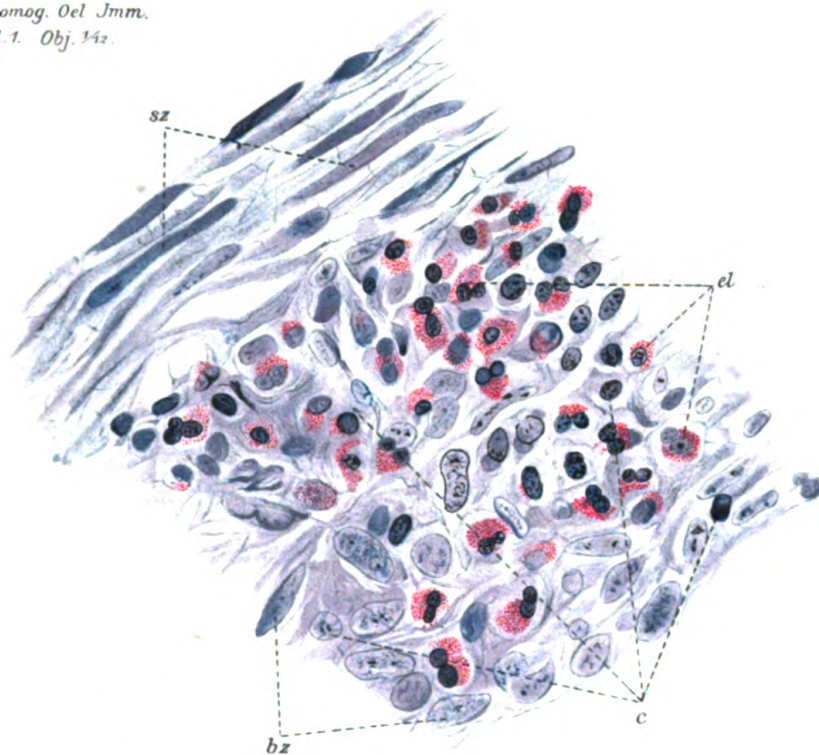
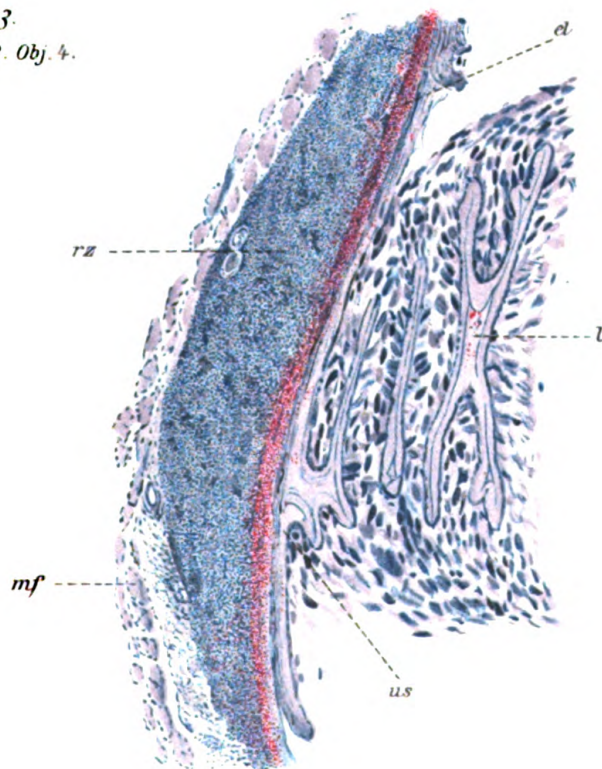


Fig. 3.

Leitz, Ocl. 3. Obj. 4.



*Nachdruck verboten.**Davainea provincialis*.

Von Dr. v. Linstow in Göttingen.

Mit 3 Figuren.

Im Heft 4, Bd. 50, 1909, dieser Zeitschrift beschrieb ich eine Anzahl Helminthen, die mir Herr Dr. Scheben aus Rehoboth in Deutsch-Südwest-Afrika geschickt hatte. Vor einiger Zeit erhielt ich von Herrn Dr. Scheben, der inzwischen nach Europa zurückgekehrt ist, noch eine zweite Sendung, welche u. a. eine neue Tānie enthielt, die hier beschrieben werden soll.

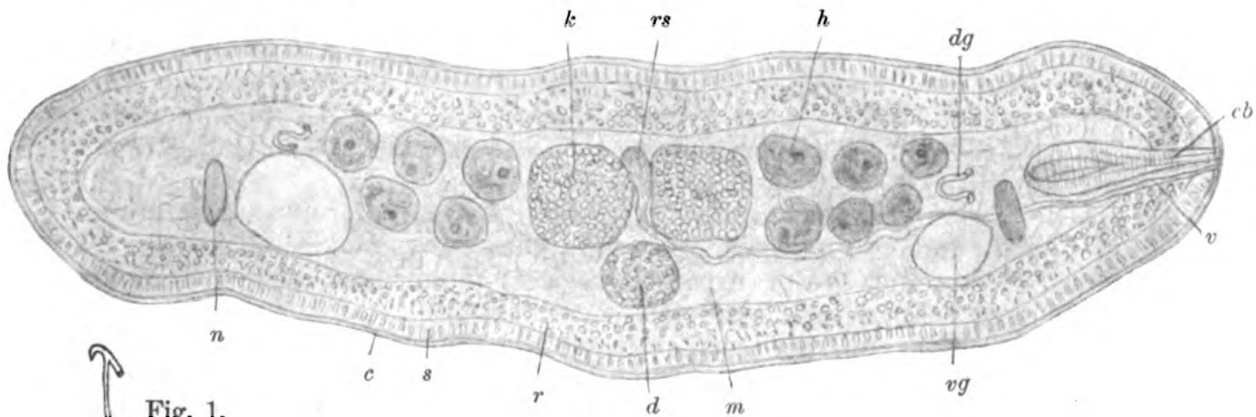


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 1. Haken vom Scolex.

Fig. 2. Querschnitt durch ein geschlechtsreifes Glied. *c* Cuticula, *s* Subcuticularschicht, *r* Rindenschicht, *m* Marksicht, *cb* Cirrusbeutel, *v* Vagina, *rs* Receptaculum seminis, *d* Dotterstock, *k* Keimstock, *n* Nerv, *dg* dorsales, *vg* ventrales Gefäß, *h* Hoden.

Fig. 3. Querschnitt durch ein Glied mit Eiern, *e* Eikapsel von *Davainea provincialis*.

Das Wohntier der Art, die ich *Davainea provincialis* nennen möchte, ist *Francolinus adspersus* Waterh.

Die Länge beträgt 60 mm, die Breite vorn 0,12 mm, hinten 1,58 mm; der Körper ist vorn an einer 1,2 mm langen Strecke ungegliedert; dann beginnen Proglottiden, die 0,026 mm lang und 0,19 mm breit sind, hinten beträgt ihre Länge 0,47 mm; alle Glieder sind also viel breiter als lang; die Konturen sind sägeförmig. Der eiförmige Scolex hat eine Länge von 0,30 mm und eine Breite von 0,28 mm; die Saug-

näpfe sind 0,13 mm groß; am Scheitel stehen 2 Kreise von Haken, die sehr klein sind und dicht gedrängt stehen; ihre Gesamtzahl beträgt etwa 500, ihre Länge 0,0143 mm; die Gestalt ist hammerförmig; der Wurzelast ist klein, der Hebelast sehr lang.

Die Geschlechtsöffnungen stehen einseitig und randständig, ganz vorn am Gliedrande; die Geschlechtsorgane sind entwickelt an der Grenze zwischen dem 2. und 3. Drittel der Kette; hier beträgt die Breite der Proglottiden 1,07 mm, der dorsoventrale Durchmesser 0,35 mm; die Rindenschicht ist 0,07 mm stark, die Subcuticularschicht 0,018 mm, die Cuticula 0,0026 mm.

Der Cirrus ist kurz und kolbenförmig und unbedornt, der Cirrusbeutel ist ebenfalls kolbenförmig und nimmt $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{7}$ des Querdurchmessers ein. Die kugelförmigen Hoden liegen zu 10—12 in einem Querschnitt; sie sind 0,057—0,086 mm groß.

Die Vagina ist stark geschlängelt und endigt mit einem Receptaculum seminis, das in der Mitte der Glieder liegt, zwischen den beiden kugelförmigen Keimstöcken, deren Zellen 0,013 mm messen; ventral von ihnen liegt der kleinere Dotterstock mit 0,0052 mm großen Zellen.

Die beiden ventralen Hauptlängsgefäße sind sehr breit; sie verlaufen etwa im 2. und 4. Fünftel des Querdurchmessers und sind hinten im Gliede durch eine breite Anastomose verbunden; die beiden dorsalen Gefäße sind schmal und sehr stark geschlängelt.

Nach außen von den Gefäßen liegen die Hauptlängsnerven, die einen ovalen Querschnitt haben, der längere Durchmesser steht dorsoventral. Die Eier liegen in großen Kapseln mit breiten, hyalinen Wandungen; sie sind kugelförmig und 0,052 mm groß; die Hülle steht von der 0,018 mm großen Oncosphäre, die auch kugelförmig ist, weit ab.

Der Körper ist hinten an den beiden letzten Gliedern verjüngt und abgerundet.

Die

Gattung *Davainea*

ist von allen neu aufgestellten Täniengattungen am leichtesten erkennbar. Man braucht nur den Scolex zu untersuchen und findet hier, daß ein Rostellum fehlt, und daß am Scheitel zwei eng aneinanderliegende Ringe von sehr kleinen und sehr zahlreichen hammerförmigen Haken stehen. Die Geschlechtsöffnungen finden sich am Rande der Glieder und die Eier sind gruppenweise verteilt und von Kapseln eingeschlossen.

Die Arten der Gattungen sind gefunden im Menschen und in Säugetieren, in *Manis pentadactyla*, *Lepus arizonae*, *Lepus sylvaticus*, *Lepus melanotis*, *Mus siporanus*, *Mus rajab*, besonders aber in Vögeln; es werden nicht weniger als 58 in Vögeln lebende Arten aufgeführt, besonders in hühner- und taubenartigen. Die Gattung ist über die ganze Erde verbreitet.

An Helminthen schickte Herr Dr. Scheben außerdem *Taenia solium* L. aus dem Menschen und *Spiroptera microstoma* Schneider aus dem Magen des Pferdes.

Der Sendung waren beigelegt mehrere Zeckenarten, *Argas persicus* Fisch., *Ornithodoros pavementosus* Lav., *Hyalomma aegypticum* L., einige Orthopteren, *Acrida turrida* L. und *Zonocerus elegans* Schomb., Dipteren, *Hippobosca capensis* Wiedem. und *Hippobosca rufipes* Olf., sowie Larven einer Haut-Oestride vom Klippbock, *Calotragus saltatrix*. Die Bestimmung dieser

Arten verdanke ich der Güte des Herrn Prof. A. Brauer, Direktor des zoolog. Museums in Berlin. Noch unbestimmt ist eine Anzahl von Schmetterlingen, bei denen sich auch ein Psychidensack befand.

Derselbe ist gerade, 42 mm lang, vorn 6 mm breit, hinten 2,5 mm, mit spiraligen Linien, bedeckt mit Pflanzenteilen und Sandkörnern, vorn mit langen, in der Längsrichtung angehefteten Pflanzenstengeln, die bis 24 mm lang sind, vorn ist etwas Moos angeheftet. Der Sack enthält eine Raupe, die 22 mm lang und 3 mm breit ist. Der Körper ist zylindrisch, die Rückenseite ist schwarz, mit Ausnahme der 3 vorderen Ringel, die gelblichbraun sind und 10 schwarze Längsstreifen tragen; die Unterseite ist gelblichbraun, ebenso die Beine, welche schwarze Längsstreifen tragen; der Kopf ist ebenfalls braun mit schwarzen Zeichnungen. Die 3 ersten und der letzte Ringel wie die Beine sind behaart. Die Bauchfüße tragen 21—23 Haken, welche in einer Linie stehen, die innen halbkreisförmig ist und außen spitzwinklig zusammenstößt; die Haken sind nach innen, die Wurzeln nach außen gerichtet.

Das Tier wird hier besonders erwähnt, weil Herr Dr. Scheben schreibt, es werde in Rehoboth Grasschlange genannt und kneipe nach dem Glauben der Eingeborenen das weidende Vieh in die Zunge, wodurch es getötet werde.

Ohne Zweifel liegt hier eine Verwechslung vor.

Inhalt.

Es wird eine neue Tanie, *Davainea provincialis* aus *Francolinus adpersus* von Deutsch-Südwest-Afrika beschrieben, dazu Bemerkungen über die Gattung *Davainea*.

Notiz über eine angeblich giftige Schmetterlingsraupe.

Nachdruck verboten.

Ueber Eiweißüberempfindlichkeit und Beeinflussung des Zellstoffwechsels.

Von Privatdozent Dr. **Wolfgang Weichardt**, Erlangen.

Ueber die Anaphylaxie sind in den letzten Jahren verschiedene zusammenfassende Arbeiten erschienen, so namentlich von C. Levaditi im Jahresberichte über die Ergebnisse der Immunitätsforschung (Ferd. Enke, Stuttgart 1908), ferner von Otto im Ergänzungsbande des Handbuchs der pathogenen Organismen von Kolle-Wassermann (Fischer, Jena 1908). Diesen wichtigen Uebersichten reihen sich auch noch andere mit ausführlicher Literaturlaufzählung ausgestattete Veröffentlichungen an, auf die hier im einzelnen nicht eingegangen werden kann.

Den Verff. aller dieser Arbeiten, mit Ausnahme von U. Friedemann¹⁾, ist es vollkommen entgangen, daß bereits im Jahre 1901 am Schmorl'schen Institut mit Syncytialzelleneiweiß Versuchstiere passiv anaphylaktisch gemacht worden sind.

1) Friedemann, U., Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Anaphylaxie. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 591.)

Verf. injizierte damals wiederholt zerriebene Aufschwemmungen von Syncytialzellen Kaninchen. Das nach einigen Wochen gewonnene spezifische Serum wurde dann mit Syncytialzelleneiweiß zusammen anderen Kaninchen einverleibt. Ein Teil dieser Tiere ging nach einigen Tagen unter deutlichen Anaphylaxieerscheinungen, unter Krämpfen, die an eklamptische erinnerten, zugrunde¹⁾. Später wurden diese Versuche mittels intravenöser Injektionen wiederholt. Die Ueberempfindlichkeitserscheinungen traten dann noch deutlicher auf.

Diese Untersuchungen haben zweifellos allgemein theoretisch prinzipielle Bedeutung; denn zum ersten Male wurde ein anaphylaktisierender (cytolytischer, wie der Ausdruck früher lautete) Antikörper gegen Organeiweiß experimentell auf unvorbehandelte Tiere übertragen, die sich dann auch der gleichen Eiweißart gegenüber hochgradig überempfindlich zeigten.

Die hierbei im Tierversuche geschaffene passive Uebertragung von Eiweißüberempfindlichkeit auf normale unvorbehandelte Tiere ist bei den damaligen Untersuchungen entschieden das Wesentliche. Der zugleich mit unternommene Versuch, den Eklampsiesymptomenkomplex restlos zu erklären, ist ja leider auf diesem Wege, der Untunlichkeit der Uebertragung des gegen Syncytialzelleneiweiß anaphylaktisierenden Serums auf den Menschen halber nicht durchführbar.

Im Jahre 1902 gab ferner Verf. an, das oben beschriebene mit Syncytialzelleneiweiß ausgeführte Experiment auch mit Polleneiweiß vorzunehmen. Er deutete nach seinen Beobachtungen beim Verlaufe der dann eingeleiteten Tierinjektionsversuche mit Pollen das Heufieber als einen durch cytolytische Antikörper aus Polleneiweiß in Freiheit gesetzte Gifte hervorgerufenen Symptomenkomplex²⁾, einer Auffassung, der sich Wolff-Eisner später angeschlossen hat³⁾.

Für die Annahme, daß der Heufiebersymptomenkomplex ebenfalls ein rein anaphylaktischer Vorgang ist, dürfte folgender Versuch nicht bedeutungslos sein:

Zwei zu Heufieberattacken Disponierten und dem nicht für Heufieber empfänglichen Verf. wurde im Jahre 1902 Polleneiweißverreibung injiziert. Während die beiden zu Heufieber Disponierten hiernach außerordentlich heftige Symptome, namentlich seitens des Zirkulations- und Atemapparates darboten, war von irgendeiner Einwirkung auf den körperlichen Zustand des zu Heufieber nicht disponierten Verf. keine Rede.

Die oben erwähnten im Schmorlschen Laboratorium mit Syncytialzelleneiweiß ausgeführten Versuche waren dem bekannten Pfeifferschen bakteriziden Choleraexperiment nachgeahmt:

Die Uebertragung der Pfeifferschen bakteriziden Versuche mit Bacilleneiweiß auf andere ungeformte Eiweißarten (Syncytialzelleneiweiß, Polleneiweiß) hat später Wolff-Eisner, dem des Verf. Untersuchungen vom Jahre 1901 und 1902 genau bekannt waren, in zahlreichen theoretischen Erwägungen auf die allerverschiedensten Arten von Ueberempfindlichkeit auszudehnen versucht, während Verf. selbst sich den genaueren

1) Weichardt, Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 52; D. med. Wochenschr. 1902. No. 35 u. 1906. No. 46; Arch. f. Gyn. Bd. 87. Heft 3.

2) Weichardt, Sitzungsber. d. physik.-med. Soz. Erlangen. 1905. p. 209. — Serol. Studien auf dem Gebiete der exper. Therapie. Habilitationsschr. (Ferd. Enke) Stuttgart 1905. — Berl. klin.-therap. Wochenschr. 1903. No. 1.

3) Wolff, Alfr., Die Endotoxinlehre. (Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 217, siehe das Referat hierüber im Jahresber. üb. d. Ergebnisse d. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 427.)

experimentellen Studien der bei derartiger Cytolyse aus Eiweiß frei werdenden Giftspektren zuwendete.

Ueber die hierbei in Frage kommenden Komponenten der Eiweißgifte soll erst weiter unten berichtet werden.

Im Verlaufe des Jahres 1902 veröffentlichte Richet¹⁾ seine klassischen Beobachtungen über Ueberempfindlichkeitserscheinungen, die durch wiederholte Injektionen von Miesmuschelgiften veranlaßt werden, und prägte den Namen Anaphylaxie (Schutzlosigkeit).

Die Anaphylaxie trat nun in den Vordergrund des Interesses, und es beteiligten sich an ihrer Aufhellung die allerverschiedensten Forscher.

Es sei hier auf die schon oben erwähnte vorzügliche Zusammenfassung von C. Levaditi im Jahresberichte über die Ergebnisse der Immunitätsforschung hingewiesen.

Auf die mannigfachen Theorien, welche zur Erklärung der keineswegs einheitlichen Ueberempfindlichkeitsphänomene dienen sollen, des genaueren hier einzugehen, halte ich in Anbetracht obiger ausführlicher Zusammenfassung von Levaditi für unnötig. Ist doch der Meinung Friedbergers (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. II. Heft 2. p. 209) voll und ganz beizupflichten, daß fast alle die vielen modernen Anaphylaxietheorien „nichts als komplizierte Beschreibungen komplizierter Tatsachenkomplexe“ sind. Daher scheint mir seine Mahnung, „man müsse die Ueberempfindlichkeitserscheinungen mit Hilfe längst bekannter Immunitätsanschauungen aufklären, durchaus berechtigt.

Die Eiweißanaphylaxie und die Anaphylaxie gegen Körperzellen wird meines Erachtens auch noch jetzt am ungezwungensten, genau so, wie früher, in Anlehnung an den klassischen Pfeifferschen Versuch mit der Annahme erklärt, daß ein cytolytischer Antikörper entstehe und daß bei der für die Körperzellen ungewohnten Verdauung parenteral eingeführten Eiweißes Gifte gebildet werden.

Natürlich wäre es fehlerhaft, Phänomene, wie die verschiedenen Formen der Anaphylaxie durchaus nur von einem einseitigen Standpunkte aus erklären zu wollen. Vorläufig sind ja die experimentellen Unterlagen zweifellos unzureichende hierfür.

Daß eine ganze Reihe von verschieden wirkenden Giften bei den Anaphylaxiesymptomen in Frage kommen dürften, ist wohl sicher anzunehmen:

Mir selbst schienen bei den erwähnten Studien mit Syncytialzellen-eiweiß vor allem folgende gut auseinander zu haltenden Phänomene beachtenswert: Temperaturerniedrigung, Sopor, Atemverlangsamung und Krämpfe.

Eine Temperaturerniedrigung, Atemverlangsamung und Sopor veranlassende Komponente habe ich nun, wie an anderer Stelle bereits beschrieben ist²⁾, aus Eiweiß, außerhalb des lebenden Organismus, durch Hydrolyse bei 37° abspalten können. Allerdings bilden sich hierbei zahlreiche andere, weniger hochmolekulare Substanzen mit, und zwar in weit größeren Quantitäten als unsere nur spurenweise auftretende, Temperaturerniedrigung, Atemverlangsamung und Sopor hervorrufende Substanz, das Kenotoxin. Ich habe diese ersteren, diffusiblen Eiweiß-

1) Portier, P. et Richet, Ch., De l'action anaphylactique de certains venins. (Compt. rend. Soc. de Biol. 1902. p. 170—172.)

2) Weichardt, Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter. (Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels. 1907. No. 17.)

bausteine zugleich mit den Salzen durch rasches Arbeiten mit guten Dialysatoren sorgfältig zu entfernen und die zurückbleibende Lösung im hohen Vakuum so zu konzentrieren vermocht, daß das Kenotoxin in genügender Reinheit zur einwandfreien Ausführung von Versuchen reichlich zur Verfügung stand.

Die mit dieser isotonischen Lösung injizierten Tiere zeigen also nach relativ kurzer Latenzzeit konstantes Herabgehen der Körpertemperatur, Atemverlangsamung und hochgradigen Sopor, Erscheinungen, wie sie der mit Anaphylaxiestudien Beschäftigte recht oft, allerdings selten in voller Reinheit zu beobachten Gelegenheit hat. Er sieht vielmehr in der Regel zugleich auch krampfartige Erscheinungen eintreten. Ein ähnliches Bild beobachtet man nach Injektion der Tiere mit nicht oder unvollständig dialysierten Eiweißhydrolyseprodukten; wenn also die Tiere außer mit dem hochmolekularen Eiweißabspaltungsantigen — unserem Kenotoxin — zugleich auch mit weniger hochmolekularen Eiweißhydrolyseprodukten und auch reichlich mit durch Dialyse nicht entfernten Salzen injiziert werden. Die möglichen Beziehungen dieser krampfartigen Erscheinungen zum Symptomenkomplex der Eiweißüberempfindlichkeit sollen später erörtert werden.

Wird nun die hier in Betracht kommende Form der Anaphylaxie als eine Art pathologischer Eiweißverdauung, die sich parenteral abspielt, aufgefaßt, so liegt es nahe, im Hinblick auf das in den letzten Jahren bekannt gewordene Entstehen von Bausteinen des Eiweißes bei enteraler Verdauung diese Eiweißbausteine als Mitursache etwaiger Ueberempfindlichkeitssymptome bei parenteraler Verdauung zu vermuten.

Um dieser Frage näher zu treten, wurden vom Verf. verschiedene neue Versuche als Ergänzung früherer Beobachtungen angestellt. Als Versuchstier wurde die Maus gewählt, weil nur sehr kleine Mengen der betreffenden Reinpräparate beschafft werden können.

Besonders auch um deswillen ist die Maus zu Experimenten mit diesen Präparaten sehr geeignet, weil sie, wie aus den Untersuchungen verschiedener Autoren: Trommsdorff, Dörr, Russ u. a. hervorgeht, selbst keine Eiweißantikörper, die den reinen Versuch verwirren könnten, bildet.

Zwar wird von mancher Seite das Mäuseexperiment, wegen der Kleinheit der Tiere, für unzuverlässig gehalten. Sicherlich mit Unrecht. Unzuverlässig sind Mäuseversuche allerdings dann, wenn dem Experimentator Erfahrungen über die Behandlung der Mäuse zwecks Ausführung physiologischer Versuche fehlen.

So z. B. ist namentlich die Körpertemperatur der Mäuse vor jedem Versuche genau festzustellen, damit eventuell subnormal reagierende Tiere¹⁾ ausgeschaltet werden können. Bei der subkutanen Injektion werde darauf Rücksicht genommen, daß die toxische Substanz erst nach einer gewissen Latenzzeit an die lebenswichtigen Zentren gelangt. Ferner ist die sukzessive Wirkung auf die einzelnen Organsysteme nicht minder wichtig als der durchaus nicht immer eintretende Tod usf.

Als Paradigma für derartige technische Vorsichtsmaßregeln erfordernde Versuche soll die Injektion von Mäusen mit kleinen Dosen Blausäure des genaueren hier beschrieben werden:

1) Meist werden die sehr kälteempfindlichen Tiere in Gläsern viel zu kühl gehalten. Ueber die Behandlung der Mäuse zwecks feiner physiologischer Versuche s. Weichardt, Die Ermüdungsstoffe. Stuttgart (Ferd. Enke) 1909.

Von 12-proz. Blausäure wird mittels der Mikropipette 1 ccm genau abgemessen, dieses mit 1 l destillierten Wasser sorgfältig gemischt und hiervon je 0,2—0,3 ccm zwei 15 g schweren Mäusen mit normaler Aftertemperatur, von denen die eine gut aktiv oder passiv gegen Kenotoxin immunisiert worden ist¹⁾, injiziert, also mit einer Dosis der verdünnten Blausäure, welche unter der Schwelle der direkt chemischen Giftwirkung liegt. Beide Tiere werden zunächst etwas affiziert, jedoch stellt sich bei von 10 zu 10 Minuten vorzunehmenden Aftermessungen bald heraus, daß nur die eine der beiden Mäuse einen etwas stärkeren Temperaturabfall aufweist, die vorher immunisierte nicht. Die Temperaturbeobachtung allein ist nun entscheidend für den richtigen Zeitpunkt zu einer nochmaligen Injektion von etwa 0,1—0,3 ccm der verdünnten Blausäure: Eine Injektion ist nötig, wenn die Temperatur der unvorbehandelten Maus nicht mehr sinkt, während die der immunisierten wieder nahezu normal geworden ist. Gewöhnlich stellt sich dieser geeignete Zeitpunkt nach ca. 20 Minuten, von der ersten Injektion an gerechnet, ein, kann aber auch, je nach der Individualität der beiden Tiere, schon früher, bei etwa 10 Minuten, oder später, bei 30 Minuten liegen. Weitere Injektionen sind nun ebenfalls nur nach fortgesetzten vorsichtigen Temperaturbeobachtungen vorzunehmen. Nach 1—2 Stunden ist bei sachgemäßen Weiterinjektionen ein sehr erheblicher Unterschied zwischen den dann selbstverständlich mit ganz gleichen Dosen Blausäure injizierten zwei Mäusen zu konstatieren: Die Körpertemperatur der einen, vorher immunisierten Maus weicht von der einer normalen nicht wesentlich ab, ihre Atmung ist nicht verlangsamt, die Maus ist nicht soporös. Die andere, nicht vorbehandelte Maus dagegen hat eine sehr niedrige Körperwärme (30° und weniger), sehr verlangsamte Atmung und bleibt, da sie schwer soporös ist, in Rückenlage gebracht, längere Zeit frei in derselben liegen. Werden hiernach die Tiere dann noch immer mit kleinen Dosen Blausäure gleichmäßig weiter behandelt, so geht die Atemverlangsamung der nicht immunisierten, soporös gewordenen Maus ganz allmählich in Atemstillstand über, während die vorher immunisierte Maus bis dahin schwerere Schädigungen noch nicht erlitten hat und gewöhnlich anderen Tages vollkommen erholt ist. Wurde dagegen das Experiment schon unterbrochen, wenn die unvorbehandelte Maus eine Körpertemperatur von 30° zeigt, so erholt sich auch diese im Verlaufe der nächsten 24 Stunden zumeist.

Der Schluß, daß durch geringe Dosen derartiger Chemikalien, wie Blausäure, der Zellstoffwechsel so beeinflusst wird, daß zunächst Kenotoxin entsteht, dessen Wirkung aber nur bei den unvorbehandelten Mäusen in Erscheinung tritt, bei den Kenotoxingeschützten nicht, ist nach alledem berechtigt.

Was nun die aktive und passive Immunisierung der Tiere gegen dieses höhermolekulare Eiweißhydrolyseprodukt anbetrifft, so haben wir in diesen künstlich, in vitro aus Eiweiß nach bestimmter Technik herstellbaren Kenotoxinpräparaten vorzügliche Mittel, den Zellstoffwechsel ganz nach Belieben so zu beeinflussen, daß das Tier entweder im Sinne gesteigerter Resistenz oder gesteigerter Ueberempfindlichkeit reagiert:

Die mit dem Reinkenotoxin injizierten Tiere zeigen also, wie oben beschrieben, nach relativ kurzer Latenzzeit Körpertemperaturerniedrigung, Atemverlangsamung und Sopor. Ist jedoch das zum Versuche dienende

1) Weichardt, l. c.

Kenotoxin nicht hinreichend gereinigt oder bei langsamer Herstellung nicht mehr unzersetzt, enthält es neben dem hochmolekularen Kenotoxin noch einfachere Spaltungsprodukte des Eiweißes oder giftige Zersetzungsprodukte des Kenotoxins, so treten vorwiegend durch antikörperartige Einwirkung nicht mehr beeinflussbare, schwere, unter Umständen deletäre Symptome bei den Tieren auf, Krämpfe, Lähmungen, Blutdruckerniedrigung, überaus starkes Fallen der Körpertemperatur, ausgebreitete Oedeme usf.

Dabei zeigt sich nun, daß die gegen Kenotoxin immunisierten Tiere gegen diese deletären Giftkomponenten in der Regel weit empfindlicher sind als die unvorbehandelten. Die letzteren geraten vielmehr zunächst durch die relativ schnell eintretende Wirkung des zugleich mit vorhandenen Kenotoxins in Sopor und sind dadurch etwas geschützt¹⁾. Daher müssen die Wirkungen der deletären Komponenten, z. B. Krämpfe, bei den gegen Kenotoxin immunisierten Tieren, bei welchen also die schützende Wirkung des Sopor ausgeschaltet ist, bei weitem schneller und heftiger auftreten. Es kann also vorkommen, daß die immunisierten Tiere im Krampfstadium plötzlich verenden, während die im schweren schützenden Sopor liegenden, vor dem Versuche nicht immunisierten, krampffrei bleiben und sich unter Umständen nach Abklingen des Sopor wieder erholen. Ich habe diese Art mit isolierbaren Substanzen zu erzielende Anaphylaxie a. a. O. beschrieben, und sie auf eine Verstopfung lebenswichtiger Rezeptoren durch das in mäßigen Dosen nicht allzu deletäre und in diesem Falle schützende Kenotoxin zurückgeführt²⁾.

Es ist nach alledem durchaus plausibel, daß in gewissen Stadien der Eiweißimmunisierung ein ganz ähnlicher Vorgang stattfinden kann, nämlich die Bildung eines Antikörpers gegen das hochmolekulare, wenig deletäre und, da es Sopor veranlaßt, gegen tödliche Komponenten der gebildeten Giftgemische schützende Kenotoxin.

Von diesen Gesichtspunkten aus sind auch anaphylaxieartige Erscheinungen erklärlich, auf die Kraus in einer seiner letzten Veröffentlichungen³⁾ wiederum besonders aufmerksam macht. Dieser Autor hebt hervor, daß Kaninchen, welche mit heterologem Serum oder mit Bouillon peritoneal vorbehandelt worden sind, nach 24 Stunden gegen eine intravenöse Injektion von Tuberkulin, die Kontrolltiere nahezu reaktionslos vertragen, mit anaphylaxieartigen Symptomen reagieren.

So am Tage vorher mit körperfremdem Eiweiß behandelte Tiere können als gegen Kenotoxin aktiv immunisiert gelten, sie sind deshalb, wie aus Obigem hervorgeht, empfindlicher gegen Giftgemische, die neben dem wenig deletären, in diesem Falle durch Rezeptorenverstopfung schützend wirkenden Kenotoxin noch andere deletäre Komponenten enthalten, wie das bei Tuberkulin der Fall ist.

Wenn man Tiere mit Eiweißhydrolysenprodukten injiziert, so treten also neben dem Sopor vor allem krampfartige Erscheinungen in den Vordergrund. Diese auch bei der Eiweißanaphylaxie oft zu beobachtenden, plötzlich auftretenden Krämpfe, nach denen, wenn sie hierdurch

1) Eine gewisse Analogie vermag man in dem Schutz anaphylaktischer Tiere in der Narkose (Besredka) zu erblicken.

2) Natürlich müssen, damit die Erscheinungen so, wie oben beschrieben, eintreten, die verschiedenen Komponenten des injizierten Giftgemisches in einem bestimmten quantitativen Verhältnisse zueinander stehen. (Siehe Fol. haematolog. Jg. 4. Suppl. No. 1. p. 63 u. Jahresb. über die Ergebn. der Immunitätsforsch. Bd. 3. p. 73.)

3) Cf. B. Kraus, Ueber die Giftigkeit der Serumhämolyse etc. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 3. 1909. Heft 2.)

nicht akut verenden, die Versuchstiere in schweren Sopor verfallen, gehen dann zumeist relativ schnell und vollständig vorüber. Sie zeigen frappante Ähnlichkeit mit den Krampferscheinungen, die bei Mäusen nach Injektion hypertotonischer Lösungen einzutreten pflegen. Man kann sich daher recht wohl vorstellen, daß diese bei der Eiweißanaphylaxie zu beobachtenden Krampferscheinungen durch aus dem kolloidalen Eiweiß entstehende Peptone und Aminosäuren mit relativ hoher Volumenenergie bedingt sind. Diese müssen ja, in der Nähe lebenswichtiger Zentren plötzlich in Freiheit gesetzt, schwere Störungen veranlassen. In der Tat treten bei den mit größeren Dosen reiner Aminosäuren injizierten Mäusen krampfartige Erscheinungen ein, genau so, wie zumeist nach der Injektion von hypertotonischen Lösungen überhaupt.

Man kann also mittels vorsichtiger Hydrolyse von Eiweiß Produkten herstellen, mit denen Symptome der Eiweißanaphylaxie zielbewußt hervorzurufen sind¹⁾.

Nach Friedbergers Ansicht und nach der durch Experimente erhärteten Annahme von Doerr und Russ ist die anaphylaktische Reaktion nichts anderes als eine in Organen zwischen sessilem Präzipitin der giftempfindlichen Zelle und präzipitabler Substanz sich vollziehende. Sehr wichtig ist der von Doerr und Russ geführte Nachweis, daß der Gehalt von Immunseren an Präzipitin der Menge vorhandener anaphylaktischer Immunkörper entspricht. Nicht erklärt wird hingegen, warum gerade der Präzipitinvorgang als solcher die Vergiftungserscheinungen hervorrufen soll. Der neuerdings von Uhlenhuth, Händel, Friedberger u. A. erbrachte Nachweis, daß Komplementverankerung für das Zustandekommen der Anaphylaxie ausschlaggebend ist, weist meines Erachtens auf enge Beziehungen der Eiweißcytolyse zur Anaphylaxie hin, Beziehungen, die ja schon vor nunmehr 8 Jahren am Schmorlschen Institute durch Versuche erhärtet worden sind.

Neuere Untersuchungen auf dem Gebiete der Eiweißchemie lassen uns übrigens einen gewissen Parallelismus von Präzipitation, Komplementbindung und Freiwerden giftiger Eiweißabbauprodukte vielleicht nicht unerklärlich erscheinen. So konnte zunächst im Abderhaldenschen Laboratorium gezeigt werden, daß durch Behandlung von Tieren mit Eiweiß in deren Serum ein fermentartiger Antikörper entsteht, welche Glycyltyrosin, also einen Eiweißbaustein, verdaut. Hierbei fällt das schwer lösliche Tyrosin in Gestalt eines Niederschlages aus. Ferner konnte E. Abderhalden und Verf. zeigen, daß im Serum von mit Seidenpepton behandelten Tieren Antikörper entstehen, die das Seidenpepton in charakteristischer Weise verdauen, ein Vorgang, welcher mittels Beobachtung der hierdurch bedingten Drehungsveränderung des polarisierten Lichtes verfolgt und kurvenmäßig festgelegt werden kann²⁾.

Bei Behandlung von Tieren mit unverändertem Eiweiß sind sehr wahrscheinlich die am stärksten präzipitinhaltigen Sera meist am reich-

1) Erwähnt sei hier, daß auch von anderer Seite — von Arthus (C. r. Soc. de Biol. p. 817) — Eiweißhydrolyseprodukte in Beziehung zur Anaphylaxie gesetzt worden sind. Dieser Forscher glaubt, durch Injektion von Glykokoll Tiere gegen nachfolgende Eiweißinjektionen sensibilisiert zu haben. Versuche, welche Verf. im Abderhaldenschen Laboratorium mit verschiedenen absolut reinen Aminosäuren (Glykokoll, d-Alanin l-Alanin und dl-Alanin ausführte, ergaben freilich negative Resultate).

2) Abderhalden und Pinkusssohn, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1907, und Abderhalden und Weichardt, ebenda. Bd. 62. 1909. Heft 2 u. 3. p. 120.

sten an fermentartig wirkenden Antikörpern; doch braucht natürlich ein Parallelismus beider Erscheinungen durchaus nicht zu bestehen.

Schließlich sei noch die Tatsache hervorgehoben, daß Eiweiß durch chemische Einflüsse verschiedener Art, sowie auch durch die Fermenthydrolyse in die gleichen Bausteine zu zerfallen pflegt, eine Tatsache, die mit als Beweis für das Vorgebildetsein dieser Bausteine im Eiweißmolekül gelten kann.

Freilich sind bei den experimentellen Studien der in das Serum abgeschiedenen Substanzen die hochkomplizierten chemischen Vorgänge im Inneren der lebenden Zelle jetzt leider noch vollkommen verschlossen.

Um eine derartige Zellanaphylaxie handelt es sich aber aller Wahrscheinlichkeit nach bei der Tuberkulose.

In das Gebiet der Zellanaphylaxie gehören auch die Ergebnisse der schönen Studien von Bloch und Massini¹⁾: Ein Hautstück eines gegen Trichophytie Ueberempfindlichen behält nach diesen Autoren seine Ueberempfindlichkeit auch nach der Transplantation auf ein normales Individuum bei.

Somit beruhen gewisse Anaphylaxieformen lediglich auf einer Veränderung des Zellchemismus.

Wie leicht übrigens die Zelle ihre Bestandteile gegen gewisse Stoffe (Fermente, Toxine u. a.) angreifbar resp. unangreifbar machen kann, wird durch folgendes Beispiel recht anschaulich bewiesen: Nach E. Abderhalden wird Alanyl-Glycin im Gegensatz zu Glycyl-Alanin vom Pankreassaft gespalten, somit genügt lediglich eine andere Anordnung gleicher Moleküle, ein und denselben Molekularkomplex angreifbar zu machen.

Schlusssätze.

1) Bei Eiweißanaphylaxie wird der anaphylaktische Shock veranlaßt durch parenterale Verdauung von Eiweiß seitens fermentartig wirkender Antikörper.

2) Ein übertragbarer anaphylaktisierender Antikörper wurde in Deutschland bereits im Jahre 1901 zielbewußt hergestellt und unbehandelten Tieren injiziert. Diese zeigten sich dann gegen das dazugehörige Eiweiß (Syncytialzelleneiweiß) überempfindlich.

3) Die bei Eiweißanaphylaxie auftretenden Krampferscheinungen sind wahrscheinlich auf osmotische Störungen an lebenswichtigen Zentren zurückzuführen, welche durch aus dem kolloidalen Eiweiß, analog der enteralen Verdauung, entstehende Substanzen mit Volumenenergie (Peptone, Aminosäuren) veranlaßt werden.

4) Für den ursächlichen Zusammenhang derartiger osmotischer Störungen und den anaphylaktischen Krampferscheinungen spricht die große Aehnlichkeit dieser Symptome mit den Krampferscheinungen, welche nach Injektionen hypertonischer Lösungen, also auch größerer Mengen der Aminosäuren bei nicht anaphylaktischen Versuchstieren eintreten. Ferner spricht hierfür das rasche Verschwinden der Symptome, falls nicht ein schwerer Krampfshock den Tod plötzlich veranlaßt.

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 35. Heft 1.

5) Außer derartigen, in größerer Menge gebildeten deletären Substanzen tritt bei den Versuchstieren, welche nicht tödliche anaphylaktische Shocksymptome dargeboten haben, ein Eiweißabspaltungsprodukt auf, welches Erniedrigung der Körpertemperatur, Atemverlangsamung und Sopor veranlaßt.

6) Der durch die Wirkung dieses Eiweißabspaltungsproduktes (Kenotoxin) eintretende Sopor ist also gewissermaßen eine Schutzeinrichtung des Organismus; denn

7) bei gegen Kenotoxin passiv immunisierten Kontrolltieren tritt die Wirkung der deletären Giftkomponenten eher und heftiger ein, wie bei unvorbehandelten Versuchstieren, denen die Kenotoxinwirkung einen gewissen Schutz verleiht.

Anmerkung bei der Korrektur.

Die neuerdings von H. Pfeiffer (Graz) gemachte interessante Beobachtung, daß mit dem Serum Krebskranker injizierte Meerschweinchen nach Injektion von Krebsmaterial ebenfalls mit Temperaturerniedrigung reagieren, bin ich geneigt, darauf zurückzuführen, daß im Organismus der betreffenden Meerschweinchen durch spezifische Fermente von dem Eiweiß des injizierten Krebsmaterials Kenotoxin schnell und reichlich abgespalten wird.

Daß im Krebspreßsaft an und für sich schon Körpertemperaturerniedrigendes Kenotoxin nachweisbar ist, habe ich übrigens bereits im Jahre 1907 mitgeteilt. S. dieses Centralbl. Bd. 43. p. 321.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung von Seifen auf die Lebensfähigkeit und immunisierende Eigenschaft des Tuberkelbacillus¹⁾.

[Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New-York.]

Von Dr. med. **Hideyo Noguchi**.

Verdeutscht von Dr. W. Zeuner, Berlin²⁾.

Die bakterientötende Wirkung mancher Körperflüssigkeiten ist eine unbestreitbare Tatsache, die durch die moderne Bakteriologie entdeckt wurde. Die Natur der bakteriziden Substanzen in der Lymphe und im Blutserum ist zwar biologisch, aber nicht chemisch erforscht. Wir wissen immer noch nicht Bescheid über die genaue Zusammensetzung der bakteriziden Substanzen, obgleich uns manches über deren Eigenschaften bekannt ist. Dies ist auch nicht weiter verwunderlich, wenn wir bedenken, wie groß die Verschiedenheit der Stoffe ist, die im Blutplasma enthalten sind, und wie verwickelt und leicht veränderlich manche davon sind. Die Gewebszellen wirken ebenfalls bakterizid. Diese Eigenschaft kommt gewissen beweglichen Zellen (Leukocyten) zu, die während einiger Stufen ihrer

1) Vortrag, gehalten auf dem 6. Internat. Tuberkulose-Kongreß zu Washington am 1. Okt. 1908. (Mehrere Tabellen des Originals sind ausgelassen.)

2) Neue Ziele der spezifischen Tuberkulose-Bekämpfung. (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 15. 1909. Heft 2.)

Existenz Teile von gewissen Geweben (wie Knochenmark) und gewissen fixierten Zellen (wie den Endothelien) darstellen, welche vornehmlich in allen Körperteilen fixiert sind, obwohl sie möglicherweise von jenen beweglichen, phagocytischen Elementen herzuleiten sein mögen.

Lympe und Blutserum wirken auch unter Verhältnissen, die nicht streng an den lebenden Zustand gebunden sind, bakterizid, während die Phagocyten nur im lebenden Zustande bakterizid wirken. Im Gegensatz hierzu gibt es weiter neben denjenigen Zellen, die als phagocytenbildend auftreten, solche, die bakterizide Eigenschaften speziell erst nach ihrem Tode aufweisen. Mit anderen Worten: die Auflösung der Zellen hat eine verstärkte oder erneuerte bakterientötende Kraft im Gefolge. Diese postmortale, bakterizide Kraft zeigt sich am besten an Organen, die man einer aseptischen Autolysis unterwirft. Die Produkte, welche bei diesem Vorgange entstehen, besitzen im hohen Grade bakterientötende Eigenschaften.

Conradi, der zuerst die bakteriziden Wirkungen der autolysierten Gewebe feststellte, beschreibt die wirksamen Substanzen als hitzebeständig, nicht reduzierend, durch Porzellan filtrierbar, nicht absorbierbar für Tierkohle, Stärke und Lycopodium, diffusibel durch Pergament und löslich in Alkohol, aus welchem sie in Aether sich ausfällen lassen. Es handelt sich also nach seinen Angaben um aromatische Eiweißderivate. Der eigentlich wirksame Körper konnte nicht näher ergründet werden.

Bartel und seine Mitarbeiter fanden, daß die autolytischen Produkte, die vom Lymphdrüsengewebe herrühren, auf Tuberkelbacillen virulenzabschwächend einwirken, wenn man sie mehrere Tage auf dieselben wirken läßt. Sowohl der Typus humanus als bovinus wurde durch autolysierte Lymphdrüsen beeinflusst, und Versuchstiere, die mit solchen avirulenten oder schwach virulenten Kulturen injiziert wurden, erwiesen sich mehrfach als geschützt gegen nachfolgende Impfung mit virulenten Bacillen.

Meine eigenen Versuche gingen nicht eigentlich von Conrads und Bartels Arbeiten aus, sondern vielmehr von einer vorhergehenden Untersuchung über die komplementartige Eigenschaft der Seifen bei der Hämolyse und Bakteriolyse, die ich bereits früher veröffentlicht habe. Ich hatte gefunden, daß Seifen gewisse Bakterien, so den *B. typhosus* und *B. anthracis*, stark schädigen, und daß die bakterientötende Fähigkeit durch inaktiviertes Blutserum völlig aufgehoben wurde. Zu dem Entschluß, den Einfluß der Seifen auf den Tuberkelbacillus zu prüfen, bestimmte mich weiter die Erwägung, daß die Fettwachshülle desselben wohl viel besser durch Seifen als durch andere Agentien in wässriger Lösung durchdrungen werden würde, und daß die Schädigung eher der Abstufung und Kontrolle unterworfen wäre. Diese Vermutung erwies sich als wohl begründet, wie ich nunmehr berichten will.

Wenn wir die Beschreibung, die Conradi von den bakteriziden Körpern gibt, betrachten, so müssen wir sagen, daß die letzteren im allgemeinen zu den Seifen gehören, und das von Bartel verwendete, wirksame Produkt enthält sicher verschiedene Seifen. Die weite Verbreitung von Fetten, Lipoiden und lipolytischen Enzymen in den Geweben schafft die wirklichen Bedingungen für eine freie Produktion von Fettsäuren während der mit dem Abbau einhergehenden Veränderungen im Gewebe, und die nebenhergehenden Wirkungen der proteolytischen Fermente der Gewebe ergänzen unter diesen Verhältnissen die organischen Basen durch Bindung mit den dabei freiwerdenden Fettsäuren

zu Seifen, von denen ein Teil sich übrigens auch mit organischen Basen in den Geweben verbindet. Hierbei spielt die stufenweise, chemische Spaltung der höheren Fette und Lipoide bei Zutritt von Luft und Licht ebenfalls eine Rolle.

Ob ein ähnlicher Vorgang, wie er durch autolytische Extrakte hervorgerufen wird, in lebenden Geweben Platz greift, vermag ich nicht zu sagen. Wir wissen jedoch, daß hierbei im Körperinnern im Allgemeinen ein Abbau und Aufbau von Fett in und aus Fettsäureradikulen vor sich geht. Es ist dessenungeachtet nicht festgestellt, daß die Seifen allgemein in den Säften in einem solchen Zustand von Aktivität vorkommen, daß sie eine wirksame Ursache der Bakteriolyse abgeben. Ganz andersartig können ja die Vorgänge in lokalen Herden sein, in denen durch den Tuberkelbacillus geschädigte Gewebelemente degenerieren: die autolytischen Veränderungen, die in tuberkulösem Gewebe vor sich gehen, können begreiflicherweise Seifen in einem solchen Umfange freimachen und bilden, daß sie fähig sind, die darin enthaltenen Bacillen zu zerstören.

In Anbetracht dieser den Umständen angemessenen Möglichkeiten unternahm ich es, nachdem ich die pathologischen und bakteriologischen Tatsachen, die auf diese Gedankenreihe hinzielen, etwas bestätigt fand, direkt zu untersuchen, ob einige Seifen, insbesondere die Oelsäureverbindungen, eine bakterizide Wirkung auf den Tuberkelbacillus besitzen. Weiter dehnte ich meine Beobachtungen auf die Möglichkeit aus, künstliche Immunität bei Tieren zu erzeugen, die mit Tuberkelbacillen nach Abtötung der Organismen durch bakterizide Oelseifen vorbehandelt worden waren. Die Ergebnisse finden sich in den folgenden Protokollen:

Experimente Gruppe I.

Tierversuche betreffs der antibakteriellen Eigenschaften von Oelseifen auf den Typus bovinus und humanus des Tuberkelbacillus.

Die antibakterielle Eigenschaft der Oelseifen (Natrium oléicum, Neurin (Cholin) und Ammoniumoleat) wurde an Meerschweinchen geprüft, indem eine reichliche Menge, gewöhnlich 0,5 bis 1 ccm von einer dicken Tuberkelbacillenemulsion in Seifenlösung eingepflegt wurde. Diese Emulsionen waren sehr dick und wurden gewonnen, indem ich ungefähr 24 Stunden die Seifen bei 37 ° C einwirken ließ, bevor das Präparat zur Injektion verwendet wurde. In dieser Versuchsreihe wurden keine Kulturprüfungen über die Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen, die mit wechselnden Stärken der unterschiedlichen Seifen behandelt waren, angestellt, und daher kann nicht bestimmt gesagt werden, ob die antibakteriellen Eigenschaften zur bakteriziden oder nur abschwächenden Wirkung der Seifen gehören.

Es wurden 4 Stämme vom bovinen und einer vom menschlichen Typ verwendet. Die erlangten Ergebnisse zeigen, daß die virulenten Stämme des *B. tuberculosis* von beiden Typen dermaßen durch die verwendeten Seifen verändert wurden, daß sie öfters bei den Versuchstieren überhaupt keine Tuberkulose hervorriefen. In einigen Fällen zeigte sich die Tuberkulose viel milder und verlief viel langsamer als bei den Kontrolltieren. In denjenigen Fällen, wo der Tod eintrat, stellte er sich stets viel später ein als bei den Kontrolltieren. Bei den Meerschweinchen, die der tuberkulösen Infektion durch die „verseiften“ Bacillen entgingen, entwickelte sich fraglos Immunität.

Typus bovinus.

^N₂₀₀-Natriumoleat und *B. bovinus* 10 (Einwirkung 24 Stunden). 12. Febr. 1907.

Ein Meerschweinchen, das mit Natriumoleatbakterien geimpft und dann mehrere folgende, abwechselnde Tage weiter so behandelt wurde, zeigte keinerlei tuberkulöse Verletzungen während einer Beobachtungszeit von 159 Tagen.

^N₂₀₀-Neurinoat und *B. bovinus* 10 (Einwirkung 24 Stunden). Ein Meerschweinchen

wurde in gleicher Weise behandelt. Nach 75 Tagen wurde das Tier, welches sichtlich wohl war, chloroformiert und seziiert. Es fanden sich keine tuberkulösen Herde.

$\frac{N}{200}$ -Ammoniumoleat und *B. bovinus* 10 (Einwirkungszeit 24 Stunden). Ein Meerschweinchen wurde in gleicher Weise behandelt. Nach 70 Tagen verendete es und zeigte typische tuberkulöse Herde.

Die Kontrolltiere verendeten alle an typischer Tuberkulose in 46 und 66 Tagen. Die Kultur, die mit $\frac{N}{200}$ -Seifenlösungen behandelt wurde, verursachte also keine oder nur milde Erkrankungen bei den Tieren.

1:100 Natriumoleat und *B. I.*, zweifelhafter Typus (Einwirkungszeit 24 Stunden). 12. März 1907. Ein Meerschweinchen wurde injiziert und zeigte danach keine Symptome der Tuberkulose. Auch erwies es sich als refraktär gegen eine frische Einimpfung mit virulenter Kultur, die nicht mit Oelseife behandelt war.

1:100 Neurinoleat und *B. I.* (Einwirkungszeit 24 Stunden). Ein Meerschweinchen wurde vacciniert und verendete nach 148 Tagen an allgemeiner Tuberkulose.

1:100 Ammoniumoleat und *B. I.* (Einwirkungszeit 24 Stunden). Ein Meerschweinchen wurde injiziert. Es entwickelten sich keine tuberkulösen Herde. Ein späterer Versuch ergab Immunität gegen frische Infektion.

Die 3 Kontrolltiere starben an Tuberkulose in 38, 35 und 38 Tagen. Bei den vaccinierten Meerschweinchen scheint sich demnach Immunität entwickelt zu haben. Das Neurinoleattier zeigte eine viel mildere Infektion als die Kontrollen.

1:100 Natriumoleat und *B. bovinus* (Einwirkungszeit 24 Stunden). 12. März 1907. Ein Meerschweinchen wurde mit einem Stamm vom Typus bovinus, der mit Natriumoleat behandelt worden war, geimpft und zeigte nach 47 Tagen erbsengroße Lymphdrüsenanschwellung an der Impfseite. Das Tier wurde durch Chloroform getötet und auf die Ausdehnung der tuberkulösen Erkrankung untersucht. Es fanden sich vereinzelte Knötchen in der Milz, aber die Leber war völlig frei. Von der Milz wurden am 25. April 1907 an 2 Meerschweinchen Impfungen vorgenommen, worauf die Tiere nach 11 resp. 104 Tagen an Tuberkulose verendeten.

1:100 Neurinoleat und *B. bovinus* (Einwirkungszeit 24 Stunden). Ein Meerschweinchen, welches mit bovinen Bacillen, die mit Neurinoleat behandelt waren, geimpft wurde, verendete in 15 Tagen an nichttuberkulöser Erkrankung.

1:100 Ammoniumoleat und *B. bovinus* (Einwirkungszeit 24 Stunden). Ein Meerschweinchen wurde injiziert und lebte mehrere Monate mit einigen geschwollenen Drüsen, jedoch ohne Abszesse.

Die Kontrolltiere verendeten an Tuberkulose in 20 und 44 Tagen.

Die Meerschweinchen, die mit der geseiften Kultur geimpft wurden, zeigten demnach viel mildere Infektionen als die Kontrollen.

1:100 Neurinoleat und *B. Ravenel.* (Einwirkungszeit 24 Stunden). 6. April 1907. Zwei Meerschweinchen wurden mit Tuberkelbacillen geimpft, die mit Neurinoleat vorbehandelt waren, und verendeten an Tuberkulose in 46 und 90 Tagen. 3 Kontrolltiere verendeten in 40, 40 und 30 Tagen.

Die Erkrankungen der Neurinoleattiere waren also entschieden milder als bei den Kontrollen.

1:100 Ammoniumoleat und *B. Ravenel.* (Einwirkungszeit 24 Stunden). 6. April 1907. Zwei Meerschweinchen wurden geimpft und zeigten keine Tuberkulose. Eines blieb am Leben und das andere ging an nichttuberkulöser Krankheit nach 173 Tagen ein.

3 Kontrolltiere starben an Tuberkulose in 30 bis 40 Tagen. Die Vorbehandlung dieses Stammes mit Ammoniumoleat verhinderte demnach bei den Meerschweinchen die Infektion. Vermutlich waren die Tuberkelbacillen abgetötet. In dem Fall des Neurinoleat entwickelte sich Tuberkulose milderem Grades.

Einwirkung von Oelseifen auf käsig e Massen tuberkulöser Herde bei Meerschweinchen. 26. April 1907.

Das Material wurde von Meerschweinchen gewonnen, die an Infektion mit *B. bovinus* 10 litten. Die käsig e Massen wurden in Kochsalzlösung suspendiert, von der bestimmte Mengen mit verschiedenen Seifenlösungen (1:100) gemischt wurden. Nach Verlauf von 18 Stunden wurden Meerschweinchen hiermit geimpft. Das Natriumoleattier starb in 72 Tagen, das Kontrolltier starb nach 52 Tagen. Das Neurinoleattier starb in 96 Tagen, während das Ammoniumoleattier der Infektion entging.

Das käsig e Material, das mit 1:100 Ammoniumoleat für 18 Stunden vorbehandelt war, rief also beim Meerschweinchen keine Tuberkulose hervor. Die mit anderen Oelseifen vorbehandelten, käsig e Massen verursachten den Tod viel später als die nicht mit Seife behandelten Käsemassen.

Typus humanus.

Neurinoleat und B. h. 38 (Einwirkungszeit 24 Stunden). 12. März 1907. Ein Meerschweinchen wurde injiziert und verendete an allgemeiner Tuberkulose in 42 Tagen.

Natriumoleat und B. h. 38. Ein Meerschweinchen wurde injiziert und verendete an typischer Erkrankung in 77 Tagen.

3 Kontrolltiere starben an Tuberkulose in 54, 34 und 42 Tagen. Der verwendete Stamm scheint also sehr widerstandsfähig gegen die bakteriziden Eigenschaften der Oelseifen zu sein.

Entwicklung der Immunität.

Typus bovinus. Zwei Meerschweinchen, die mit diesem anderen Stamm, der durch Natriumoleat abgetötet war, injiziert wurden, zeigten keine Symptome von Tuberkulose innerhalb ungefähr dreier Monate (vom 6. April bis 3. Juli 1907). Sie wurden am 3. Juli 1907 mit einer reichlichen Menge desselben Stammes (jedoch unverseift) injiziert. 2 Kontrollen wurden ebenso geimpft. Die Kontrollen starben an typischer Tuberkulose in 36 und 25 Tagen, wohingegen die vorher geimpften Meerschweinchen wohl auf blieben bis zu 50 Tagen. Dann trat Abmagerung ein und bei der Rückkehr aus den Ferien fehlten beide Tiere.

Typus bovinus. Zwei Meerschweinchen, die mit der verseiften Kultur am 12. März 1907 injiziert wurden, waren noch gesund am 3. Juli 1907. Sie wurden mit frischer, unverseifter Kultur des gleichen Stammes am 3. Juli 1907 geimpft (ebenso wie 2 Kontrolltiere zur selben Zeit). Nach Ablauf von 3 Monaten starb das eine an einer nicht-tuberkulösen Krankheit. Die Autopsie ergab keinen tuberkulösen Herd. Das zweite Meerschweinchen blieb beständig verschont von Tuberkulose, während die beiden Kontrollen in 22 und 36 Tagen der typischen Tuberkulose erlagen.

Dies sind die wenigen Fälle, bei denen sich ohne Frage Immunität entwickelt hat.

Experimente Gruppe II.

Kultur- und Tierversuche über die antibakteriellen Eigenschaften verschiedener Oelseifen und ihrer Komponenten gegenüber dem Tuberkelbacillus.

3 Stämme vom Typus bovinus, ein Stamm vom Typus humanus, ein Stamm der Froschtuberkulose, ein Stamm der Geflügel- und ein Stamm der Fischtuberkulose wurden verwendet.

Die Einwirkung der Seifen wurde geprüft, indem man die letzteren mit übereinstimmenden Nährböden mischte, und indem man die virulenten, kräftig wachsenden Stämme auf diese Medien überimpfte und ferner, indem die Seifenlösungen auf die Kulturen der in Bouillonglyzerinagar wachsenden Tuberkelbacillen gegossen wurden, bis die Kolonien völlig mit einer hohen Schicht von Seifenlösung bedeckt waren. Dann wurden nach Verstreichen verschieden langer Zeiten die Kolonien herausgefischt und die Bacillen wurden, nachdem sie in Kochsalzlösung für einige Stunden suspendiert waren, um die Seifen frei zu machen, auf übereinstimmende, selbstverständlich unverseifte Nährböden und ebenso auf Meerschweinchen übergeimpft. Die erzielten Ergebnisse lehren, daß die Oelseifen bakterizid sehr wirksam sind und den Tuberkelbacillus vollständig abtöten können, wenn sie in entsprechender Konzentration angewendet werden. Natriumoleat erscheint als das am meisten wirksame Agens. Die einzelnen Komponenten der Oelseifen vermögen die Tuberkelbacillen nicht abzutöten, wenn sie in Konzentrationen (auf das Normale berechnet) verwendet werden, die den leichter wirksamen Konzentrationen der Seifen entsprechen. Reine Oelsäure scheint bemerkenswerte bakterizide Kraft zu besitzen, wenn sie lange Zeit einwirken kann. Natriumhydroxyd^N₄₀ übt nur eine schwach schädigende Wirkung auf die Bacillen aus, während Natriumoleat in dieser Konzentration dieselben zerstört. In einigen Fällen fielen die Tierversuche positiv aus, während die Kulturproben kein Wachstum mit „geseiften“ Bacillen ergaben.

Bacillus Ravenel wuchs in den ersten Serien überhaupt nicht, während die übrigen nach 3 oder 4 Wochen in beschränkter Form wuchsen. Die Beigabe von 0.3 ccm einer 2-proz. Oelseifenlösung übt auf das Wachstum einen gewissen einschränkenden Einfluß aus, der nach einem Monat von den Bacillen in großer Ausdehnung überwunden wird.

Experimente Gruppe III.

Bakterizide Kraft der Oelseife. Wirkung der Natriumoleatlösung auf wachsende Kulturen.

Nachdem ein sehr virulenter Stamm vom Typus bovinus in Bouillonglyzerinagar 3 Wochen gewachsen war, wurden die Kulturen mit Seifenlösungen von wechselnden Konzentrationen bedeckt. Von Zeit zu Zeit wurden Ueberimpfungen von diesen geseiften Tuberkelbacillen in neue, seifenfreie Nährböden in der Absicht gemacht, um die Lebensfähigkeit der geseiften Bakterien zu bestimmen. Bei Zusatz von 0,2 bis 2-proz. Natriumoleatlösung wuchs von den Kulturen nichts.

Tierexperimente mit den geseiften Kulturen:

Die virulenten Tuberkelbacillen wurden mit Natriumoleatlösungen 7 Tage lang vorbehandelt und dann subkutan in der Inguinalgegend eingepft.

Kultur, vorbehandelt mit 2-proz. Natriumoleat: 3 Meerschweinchen blieben sämtlich am Leben, zeigten keine Drüsenschwellungen etc. Nach 2 Monaten wurden sie getötet und zeigten keine tuberkulösen Herde.

0,5-proz. Natriumoleatlösung zur Kultur zugesetzt: 3 Meerschweinchen blieben sämtlich am Leben und wiesen nach der Tötung keine tuberkulöse Erkrankung auf.

0,2-proz. Natriumoleatlösung zur Kultur zugesetzt: 3 Meerschweinchen starben an Tuberkulose in 40, 43 und 46 Tagen. Die Autopsien ergaben typische Herde.

0,04-proz. Natriumoleatlösung zur Kultur zugesetzt: 3 Meerschweinchen starben an Tuberkulose in 25, 28 und 47 Tagen.

Vorbehandlung der Kultur mit Kochsalzlösung als Kontrolle: 3 Meerschweinchen starben an Tuberkulose in 48, 32 und 28 Tagen.

Experimente Gruppe IV.

Wirkungen der Oelseifen auf Lebensfähigkeit und Virulenz der Tuberkelbacillen.

A. Kulturversuche.

Kalbfleischbouillon wurde durch Zusatz von 0,3-proz. Oelseife so beeinflußt, daß Kolonieflocken vom Tuberkelbacillus aus anderer ungeseyter Bouillonkultur nicht mehr schwammen. Um das Niedersinken der übertragenen Kolonien in der seifenhaltigen Bouillon zu verhindern, nahm ich Korkscheiben und brachte die Kolonien auf dieselben. Nach 71 Tagen wurden die Kulturen untersucht: sie zeigten keine Spur von Entwicklung, wohingegen bei der Kontrollkultur mäßiges Wachstum stattgefunden hatte. Von jeder Kultur wurde in der Absicht, ihre Vitalität zu prüfen, eine neue Kultur in Bouillonglyzerinagarkolben angelegt, wobei folgende Resultate erhalten wurden:

0,3-proz. Natriumoleat-Bouillonkultur: kein Wachstum in 30 Tagen nach der Uebertragung.

0,3-proz. Ammoniumoleat-Bouillonkultur: kein Wachstum in 30 Tagen nach der Uebertragung.

0,3-proz. Neurinoleat-Bouillonkultur: kein Wachstum in 30 Tagen nach der Uebertragung.

0,3-proz. Oelsäure-Bouillonkultur: mäßiges Wachstum in 14 Tagen. Gutes Wachstum in 30 Tagen.

Kontroll-Bouillon-Kulturen: mäßiges Wachstum in 14 Tagen. Gutes Wachstum in 30 Tagen.

Mit diesen geseiften Kulturen wurden Tierversuche ausgeführt, die ergaben, daß die Bacillen noch lebendig waren.

B. Tierversuche.

Die Kulturen von der 0,3-proz. Natriumoleat-Bouillon, Ammoniumoleat-Bouillon und Neurinoleat-Bouillon verursachten Drüsenschwellungen und Tod bei den Meerschweinchen. Das Ende trat nach 74, 78, 82 und 103 Tagen ein. Die Kontrollmeerschweinchen, die mit Tuberkelbacillen aus der seifenfreien Bouillonkultur geimpft waren, verendeten nach 51 und 49 Tagen. Es bestanden demnach bemerkenswerte Unterschiede zwischen der Schwere der tuberkulösen Erkrankung bei den beiden Tierreihen.

Der hierbei benutzte Stamm war weniger virulent als der bei Gruppe 3 verwendete.

Experimente Gruppe V.

Auslaugung der stark virulenten Kultur vom Typus bovinus mit Natriumoleat, Natriumhydroxyd und Oelsäure.

Die Auslaugung wurde 5 Tage hindurch vorgenommen, worauf die Uebertragung in Bouillonglyzerinagar erfolgte. Die Ergebnisse waren folgende:

2-proz. Natriumoleat (ca. $\frac{N}{15}$) kein Wachstum in 37 Tagen.

0,2-proz. Natriumoleat (ca. $\frac{N}{150}$) kein Wachstum in 37 Tagen.

4-proz. Natriumhydroxyd ($\frac{N}{1}$) kein Wachstum in 37 Tagen.

0,4-proz. Aetznatron ($\frac{N}{10}$) schwaches Wachstum in 37 Tagen.

0,04-proz. Aetznatron ($\frac{N}{100}$) spärliches Wachstum in 37 Tagen.

Reine Oelsäure: zweifelhaftes Wachstum in 37 Tagen.

0,9-proz. Salzlösung: gutes Wachstum in 37 Tagen.

Diese Serie von Experimenten lehrt, daß Oelsäure und Aetznatron minder wirksame bakterizide Kraft besitzen als Natriumoleat, welches als sehr wirksam befunden wurde.

Tierversuche.

Vitalitätsprüfungen der obigen Kulturen nach der Auslaugung mit Seife und anderen Lösungen.

2-proz. Natriumoleat nach 5-tägiger Auslaugung: 5 Meerschweinchen wurden subkutan mit reichlichen Mengen der ausgelaugten Kulturen geimpft. Alle 5 blieben am Leben, außer einem Tier, welches nach 8 Tagen aus nicht-tuberkulöser Veranlassung verendete. Bei den übrigen 4 Tieren entwickelten sich in 4 Monaten keinerlei Symptome von Tuberkulose.

0,2-proz. Natriumoleat-Auslaugung in 5 Tagen: Bei 5 Meerschweinchen, die mit diesem bazillären Präparat geimpft wurden, kamen einige geschwollene Drüsen in der Inguinalgegend nach 36 Tagen zur Beobachtung, dabei nahmen die Tiere in dieser Zeit an Gewicht zu. Nach 2 Monaten bildeten sich einige Abszesse, ohne daß Allgemeininfektion aufzutreten schien.

Während des Winters starben viele an nicht-tuberkulöser, epidemischer Krankheit. Die Autopsien zeigten mehrere kleine, zerstreute Knötchen in Milz und Leber.

Reine Oelsäure-Einwirkung während 5 Tagen: Von den 3 Meerschweinchen, die mit diesem Präparat geimpft wurden, starb eines aus unbekannter, nicht tuberkulöser Ursache, 2 davon lebten nach 60 Tagen noch.

4-proz. Aetznatronauslaugung während 5 Tagen: Die 4 Meerschweinchen, die hiermit geimpft wurden, verendeten alle an Tuberkulose in 2—3 Monaten.

In diesen 4 Fällen traten konstant Abscesse der Drüsen auf.

0,4-proz. Natrium-Hydroxyd-Extraktion während 6 Tagen: 3 Meerschweinchen, die hiermit geimpft wurden, starben alle an Tuberkulose durchschnittlich nach 50 Tagen.

0,04-proz. Aetznatron-Einwirkung während 5 Tagen: 3 Meerschweinchen, die hiermit geimpft wurden, starben in 36, 45 und 29 Tagen.

Kochsalzlösung-Einwirkung während 5 Tagen: 4 Meerschweinchen, die hiermit geimpft wurden, starben alle in 31, 36, 25 und 20 Tagen.

Experimente Gruppe VI.

Zu 6 ccm Kalbfleischbouillon-Glyzerinagar wurden wechselnde Mengen von Natriumoleat, Oelsäure und Natriumhydroxyd zugefügt und dies dann in schräger Lage erhärten gelassen. Zur Ueberimpfung in diese Nährböden wurde ein virulenter Tuberkel-Bacillenstamm benutzt, der in Bouillonkultur einen Monat gewachsen war. Die Versuche ergaben, daß 2-proz. Natriumoleatlösung zu 6 ccm Nährboden (ungefähr $\frac{N}{60}$ entsprechend) das Wachstum der Tuberkelbacillen hindert, während Natriumhydroxyd oder Oelsäure dies nicht tut.

Antibakterielle Eigenschaften der Oelseifen und ihrer Komponenten:

Die benutzten Stämme waren Geflügel-, Fisch- und Frosch-Tuberkelbacillen. Die Technik war dieselbe, wie sie in den vorangehenden Versuchsreihen mit den Rinder-Tuberkelbacillen bereits beschrieben ist. Die Versuche ergaben, daß Natriumoleat einen weniger hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Kaltblüter-Tuberkelbacillen äußert als dies bei Warmblüter-Bacillen der Fall ist. NaOH und Oelsäure verhalten sich beinahe unwirksam, wenn sie in entsprechender Konzentration verwendet werden.

Zusammenfassung.

Wie man aus den angeführten Ergebnissen der vorliegenden Experimente ersieht, besitzen die verschiedenen Verbindungen der Oelsäure ein ausgezeichnetes bakterizides Vermögen gegenüber den verschiedenen Typen des Tuberkelbacillus. Hierbei ist zu betonen, daß das bakterizide Vermögen der Oelseifen nicht in dem gleichen Grade von ihren einzelnen Komponenten, als vielmehr von deren Mischung abhängt. Daher ist es wahrscheinlich, daß die höhere bakterientötende Aktivität der Oelseifen den die Bildung der Oelseife begleitenden Veränderungen ihrer physikalischen Eigenschaften zuzuschreiben ist; namentlich ist die Fähigkeit des leichteren Eindringens durch die wachsartige Haut des Tuberkelbacillus wichtig.

Die Impfung von Meerschweinchen mit Tuberkelbacillen, die vorher durch Oelseife abgetötet sind, entwickelt bei diesen Tieren eine vollständige oder teilweise Widerstandsfähigkeit gegenüber einer nachfolgenden Einimpfung mit einer virulenten Kultur desselben Stammes von Tuberkelbacillen. Kurz, ein Zustand von Immunität gegen *B. tuberculosis* kann bei Meerschweinchen durch Injektion mit Emulsion von durch Oelseife abgetöteten Tuberkelbacillen hervorgerufen werden.

Nachdruck verboten.

Observations on typhoid vaccination in man with attenuated live cultures.

By **Aldo Castellani, M. D.,**

Director of the Clinic of Tropical Medicine, Colombo (Ceylon).

To Wright in England and to Pfeiffer and Kolle in Germany, we owe the introduction of typhoid vaccines which have proved to be of practical importance. These vaccines consist of killed typhoid cultures, broth cultures as regards Wright's vaccine; emulsion of agar cultures as regards Kolle's vaccine. Leishman has made the important observation that the lower the temperature at which the cultures are killed, the more powerful is the vaccine.

It is well known that in the lower animals such as rabbits, the use of dead cultures for immunizing purposes is far less efficacious than using live cultures, provided the live cultures be inoculated with certain precautions. In man it has been proved by Haffkine in cholera vaccination; by Strong and Kolle in plague vaccination that the

degree of immunization obtained by using avirulent or attenuated live cultures is far greater than that obtained by using dead cultures: the same result was arrived at by me as regards typhoid.

Preparation of the live typhoid vaccine.

I now prepare the vaccine in the following manner: tubes containing 10 c. c. of broth are each inoculated with two loopfuls of a forty-eight hours old agar culture of a typhoid strain which has been kept alive in the laboratory for three years and is now avirulent¹). The broth tubes are kept in the incubator at 35 centigrades for 24 hours; they are then placed in a water-bath at a constant temperature of 50 centigrades for one hour; after which the vaccine is ready for use. I always use it the same day I have prepared it. In this vaccine the typhoid bacilli are still alive as is proved by inoculating agar tubes in which they grow fairly well.

Effects of vaccination with live typhoid vaccine.

The objection to the use of live cultures for inoculation is that they may give rise to serious symptoms and may possibly transform the inoculated persons into typhoid carriers.

The typhoid vaccine prepared according to the method I have described is, however, in my experience, devoid of any serious risk. Before using it on a fairly extensive scale, I inoculated (four years ago) myself and fifteen of my clinic and laboratory attendants and servants who volunteered for the experiment: it is to be noted that at that time the vaccine was prepared by heating at 50 virulent cultures of typhoid and not avirulent ones as I use at present. None of us experienced any severe symptom and none of us has become a typhoid carrier. In one case, after four days from the first inoculation, a fever developed which lasted five days; the microscopical examination of the blood proved it, however, to be of malarial origin.

The inoculation of the usual doses of live vaccine ($\frac{1}{2}$ c. c., 1 c. c., $1\frac{1}{2}$ c. c.) is followed by a local and general reaction as is the case with dead vaccine; in some cases the reaction is somewhat more marked. After three or four hours the region of the arm where the inoculation has been made becomes painful and red, and fever supervenes which generally does not last more than 24 hours and does not incapacitate one for work. In a certain number of cases (about 20%), the blood after a few days shows presence of agglutinins, where as I have personally never seen any distinct production of agglutinins in man when using vaccines consisting of killed cultures.

The Director of the Chemical Laboratory, Prof. Browning, has kindly submitted himself to repeated inoculations of the live vaccine; he received 1 c. c. of live vaccine regularly once a week for several weeks. The first inoculation caused a little local reaction and a slight degree of fever; the second induced a slighter local and general reaction; the third fourth and fifth inoculations were, practically, not followed by any reaction, either local or general. After the sixth and seventh the local reaction was very severe, and Prof. Browning experienced a general malaise though no fever was present. I stopped the inoculations for three weeks, after which he had another one which did not give rise

1) Previously I used pepton-water cultures, as the inoculation of such cultures is somewhat less painful than broth cultures.

to any local or general reaction. The blood was regularly examined for agglutinins. These began to appear three days after the third inoculation (1 in 20 positive; 1 in 40 bacilli immobilized, but no clumps). It reached its maximum four days after the fourth inoculation (agglutination limit 40). After the fifth inoculation the agglutination limit was only 20, and after the sixth and seventh, hardly 10. It increased again to 20 after the eighth inoculation.

Experiments in animals. In rabbits and monkeys the inoculation of a single dose of live vaccine (2 c.c.) induces the elaboration of a larger amount of agglutinins and immune bodies than the inoculation of the same dose of dead cultures. Very often a rabbit becomes highly immunized 8 to 15 days after receiving one single dose of live vaccine, while it may take several inoculations of dead vaccine to induce the same degree of immunity.

Comparative results in man. These are collected in the following Table:

Method of vaccination	No. of persons inoculated	Cases of typhoid among the inoculated	Observations (March 1909)
Both inoculations with dead vaccine (Wright)	106	2 (no death)	40 were inoculated 18 months ago; 40 one year ago; and the remaining 26 three months ago
Both inoculations with live vaccine	90	none	14 were inoculated 4 years ago; 20 two years ago; 30 one year ago; and the remaining 26 three months ago
First inoculation with dead vaccine (Wright) Second inoculation with live vaccine	220	none	150 were inoculated 18 months ago; 45 one year ago; and the remaining 25 three months ago

The results collected in this Table tend to show that the inoculation of live vaccine ensures a higher degree of immunity than the use of dead cultures. At the time of writing (1. July 1909) no case of typhoid has occurred among the inoculated with live vaccine. It must be noted that typhoid is extremely common in Ceylon and that during the last two years an appallingly severe epidemic of it has raged in Colombo.

Inoculation with mixed vaccines.

Several years ago (see Zeitschr. f. Hyg. 1903) while working in Bonn under the direction of Prof. Kruse, I proved that by inoculation an animal with two different bacteria at the same time, the blood of the inoculated animals produced agglutinins and immune bodies for both, and that the amount of agglutinins and immune bodies for each germ was about the same as in those animals inoculated with one germ only. For example, inoculating a rabbit at the same time with *B. typhosus* and *B. pseudodysentericus* (Kruse) the blood of the rabbit developed the same amount of agglutinins and immune bodies for the typhoid bacillus as control rabbits inoculated with typhoid only, and control rabbits inoculated with pseudodysentery only. I demonstrated that, even inoculating a rabbit with three different micro-organisms [*B. typhosus* + *B. pseudodysentericus* (Kruse) + strain of *B. coli communis*]

the amount of agglutinins and protective bodies elaborated for each germ was nearly the same as in animals respectively inoculated with one germ only. Moreover I was able to confirm in the course of these experiments that when immunization is obtained by a single inoculation — provided a certain minimum dose be given — the amount of agglutinins and immune bodies elaborated by the inoculated animals is not in proportion to the amount of cultures inoculated. A series of rabbits inoculated with 1 c. c. of typhoid culture will give the same average agglutination limit and the same amount of immune bodies, as a series of rabbits inoculated with 2 c. c. Friedberger and Moreschi have demonstrated that provided a certain minimum dose be given, the degree of immunization is the same as that obtained by a dose 400 times larger. These experiments tend to show that the standardization of vaccines by the count of the germs, as introduced by Wright, is not absolutely necessary, though certainly advisable whenever practicable.

I have tried mixed vaccines in man: typhoid-dysentery; typhoid-paratyphoid; typhoid-paratyphoid-dysentery. The vaccines are prepared by heating to 60 or 55 (dead vaccines) or 50 (live vaccines) for one hour pepton-water cultures of *B. typhosus*, pepton-water cultures of *B. dysentericus* (Kruse-Shiga) pepton-water cultures of *B. paratyphosus* A and paratyphosus B. These cultures are then mixed together in certain proportions in sterile Petri dishes, and the mixed vaccine is ready for use. The mixed typhoid-paratyphoid vaccine consists of two parts of typhoid, one of paratyphoid A and one of paratyphoid B. The mixed typhoid-dysentery vaccine consists of one part typhoid and one part dysentery (Kruse-Shiga); but other mixed vaccines may be prepared and used: for instance a mixed Kruse-Shiga and Flexner vaccine. Of these mixed vaccines always prepared with non virulent strains I generally inoculate $\frac{1}{2}$ c. c. of dead vaccine the first time, and after a week or fifteen days 1 c. c. of live vaccine. Mixed vaccines should be prepared with pepton-water cultures as the inoculation of dysentery broth cultures causes an extremely painful infiltration.

Conclusions.

1) The use of the live typhoid vaccine prepared according to the method I have described (heating of non virulent broth cultures at 50 cent.) is not dangerous. It probably induces a higher degree of immunization than the ordinary vaccines consisting of dead cultures.

2) Though both inoculations may consist of live vaccine without danger, the routine method of anti-typhoid vaccination which I recommend and which I now use is the inoculation of $\frac{1}{2}$ c. c. usual dead vaccine (Wright) followed, in a week's time, by the inoculation of one cubic centimetre of live vaccine.

3) Mixed vaccines may be prepared by using dead or live attenuated pepton-water cultures of typhoid and dysentery, or typhoid, paratyphoid and dysentery. The inoculation of mixed vaccines may be of advantage in some cases, but the subject requires further investigation as regards its efficacy in man.

Colombo, 1. July 1909.

Nachdruck verboten.

Sur le traitement local de l'infection rabique par des substances lyssicides, la cautérisation, l'amputation et l'hyperémie à la Bier.

[Institut antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi**, Sassari.

Dans une première note¹⁾ Fermi démontra par une série d'expériences instituées sur 130 rats blancs, que l'on peut sauver ces animaux infectés de virus fixe sous la peau du dos à l'aide des lavages et spécialement d'injections locales de nombreux antiseptiques (sublimat 1 : 1000 — collargol 1 : 1000 — protargol 1 : 1200 — acide phénique 2 % — bleu de méthylène 1 : 800) à condition que l'on fait les injections subitement après l'infection.

En effet ce traitement pratiqué après un quart d'heure fut inefficace.

Dans une seconde note²⁾ Fermi démontra par plusieurs séries de recherches instituées sur les lapins qu'il n'est pas possible, par d'abondants lavages de sublimat 1 : 5000 ou thymol 1 : 1000 de sauver ces animaux de l'infection de virus fixe obtenue simplement par le contact de la muqueuse oculaire, nasale et intestinale.

Maintenant je référerai les résultats obtenus d'autres de mes recherches.

Ces recherches furent instituées sur des rats, des lapins et des chiens.

A. Substances lyssicides.

a) Par injection.

1° L'injection d'un c. c. d'acide phénique 2 % pratiquée 15 minutes après l'infection subcutanée de virus fixe fut inefficace, confirmant avec cela le résultat des expériences précédentes si l'infection eut lieu sur le dos ($\frac{1}{2}$ c. c. d'émulsion de virus fixe 5 %); au contraire elle fut efficace quand l'infection eut lieu sur un membre. On pourrait expliquer cette différence avec le fait que selon le point d'injection varie la rapidité d'absorption du virus.

b) Par immersion et par application de bandages des parties blessées et infectées.

1° L'immersion du membre infecté de virus fixe dans une solution de sublimat 1 % à 70° pratiquée 15 minutes après l'infection pendant la durée d'une heure, sauva l'animal. L'immersion même, pratiquée une demi-heure après l'infection sauva seulement un des deux animaux en expérience. L'animal mort ne montra aucun retard dans la période d'incubation.

2° L'immersion du membre infecté dans une mélange en parties égales d'acide phénique 2 % et alcool 50 % à 70° pratiquée 30 minutes après l'infection pour la durée d'une demi-heure donna un résultat totalement négatif. Les quatre rats moururent de rage sans aucun retard.

1) Fermi, C., Sulla disinfezione locale praticata contro l'infezione sottocutanea di virus fisso. (Arch. di Farm. Vol. 6. 1907. Fasc. 6.)

2) Fermi, C., Sulla distruzione in sito del virus rabico (nota seconda). (Giorn. della R. S. Ital. d'Igiene. 1909. 31 maggio.)

3° En substituant à l'immersion l'application d'un bandage baigné dans la susdite mélange d'acide phénique et alcool pratiquée 30 minutes après l'infection on a obtenu résultat négatif.

4° L'application d'un bandage baigné d'une mélange à parties égales d'acide phénique 2% et sérum antirabique de cheval, pratiquée 30 minutes après l'infection pendant la durée de 5 heures donna résultat négatif. Les deux rats moururent sans retard.

B. Cautérisation des blessures infectées.

a) Cautérisation à l'aide d'acide nitrique.

L'immersion du membre infecté dans une solution d'acide nitrique, soit à 50 soit à 20% pratiquée une demi-heure après l'infection pendant la durée de 5 minutes, sauva les deux rats en expériment.

b) Cautérisation à l'aide du fer ardent.

La cautérisation à l'aide du fer ardent pratiquée 15 minutes après l'infection sauva seulement un des deux rats traités¹⁾.

C. Amputation de la queue infectée.

1° L'amputation pratiquée 5 cm. plus haut du point infecté, 1—2—3—5—12—24 heures après l'infection sauva, comme il résulte du tableau suivant, tous les rats en expériment (14 : 15).

2° On eut résultat complètement positif en coupant la queue même 2—3 et 5 heures après l'infection.

Les témoins moururent tous de rage.

Date	Animaux en expériment	Amputation	Résultat
		Temps après l'infection	
30 mai 1909	3 rats	1/2 heure	survécus
30 " 1909	3 "	1 "	"
28 avril 1909	2 "	2 heures	"
28 " 1909	2 "	3 "	"
28 " 1909	2 "	5 "	1 vit et un meurt de rage après 28 jours
12 juin 1909	1 rat	5 "	survécu
12 " 1909	1 "	12 "	"
12 " 1909	1 "	24 "	"
Témoin	1 "		Meurt de rage après 7 jours

D. Hyperémie à la Bier.

On institua à ce propos 12 expériences: 10 sur 26 rats, une sur 5 lapins et une autre sur 7 chiens. En tout 36 animaux.

Méthode de recherche. On appliqua la bande élastique sur le membre infecté quelque cm. plus haut du point d'infection après un nombre variable d'heures en y la laissant pour un certain temps. À l'égard de la pression exercée par la bande élastique on eut soin que celle-ci ne donne trop de peine et ne procure pas le refroidissement du membre.

1) Dans de vieilles ouvrages sur la rage (Fleming, G., Rage. p. 331) on vante l'action très efficace de la poudre à fusil placée et enflammée sur la morsure d'animaux hydrophobiques; une expérience que j'ai faite à ce propos sur des rats infectés avec des blessures à une jambe donna résultat négatif.

Date	Animaux en expériment	Application de la bande élastique		Résultat
		Temps d'appli- cation après l'infection	Durée de l'application	
13 févr. 1909	4 rats	immédiatement	1 heure	survécus
26 „ 1909	2 „	15 „	1 „	„
10 „ 1909	1 rat	15 minutes	12 heures	„
26 mars 1909	3 rats	$\frac{1}{2}$ heure	1 heure	„
13 févr. 1909	2 „	$\frac{1}{2}$ „	1 „	„
22 mars 1909	2 „	$\frac{1}{2}$ „	5 heures	„
22 „ 1909	1 rat	1 „	5 „	„
28 avril 1909	3 rats	2 heures	5 „	„
28 „ 1909	3 „	3 „	5 „	2 vivants et un mort de rage
20 mai 1909	5 „	4 „	5 „	survécus
20 „ 1909	3 lapins	2 „	12 „	2 vivants et un mort de rage
	7 chiens	4 „	5 „	survécus

Résultat. Avec l'application de la bande élastique soit subitement après l'infection, soit après 1—2—3—4 heures et en y la laissant pendant 12—5 et même une heure seulement on réussit à sauver non seulement tous les 32 rats sans exception mais aussi les lapins et les chiens. Les témoins moururent tous.

La recherche regardante les chiens doit être répétée parce-que l'on n'a pas pu faire des expériences de contrôle.

Dans une dernière expérience j'ai voulu comparer l'efficace de l'hyperémie à la Bier à la cauterisation à l'aide du fer ardent à ce but j'appliquai à quatre lapins, pour la durée de 5 heures, la bande élastique au membre postérieur droit 5 heures après l'infection souscutanée de virus fixe pratiquée 5 cm. sous le bandage, et à autres 4 lapins je cauterisai profondément avec le fer ardent une blessure infectée avec virus fixe pareillement au membre postérieur droit après 5 heures de l'infection. Deux autres lapins infectés et non traités furent les témoins.

Résultat. Des lapins soumis à l'hyperémie à la Bier s'en sauvèrent 3:4; de ceux traités avec le fer ardent s'en sauvèrent 2:4, tandis que les témoins moururent tous le deux.

L'hyperémie à la Bier, donc, obtenue par moyen de la bande élastique appliquée 5 heures après l'infection aurait donnée des résultats meilleures du même fer ardent.

Conclusion générale. 1^o Résultat négatif ou incertain, dans le traitement local de l'infection rabique, ont donné les injections, les immersions, l'application de bandages baignés dans des antiseptiques (acide phénique 2%, sublimat 1‰) si l'on les a pratiquées seulement 15 minutes après l'infection. D'autre part, il semble que l'efficace du traitement diffère selon le point d'infection. En effet les animaux infectés à la jambe semblent être plus facile à sauver que ceux infectés sur le dos.

2^o Plus efficace des susdits antiseptiques et même de la cautérisation à l'aide du fer ardent serait été l'immersion dans l'acide nitrique 20—50%.

3° Bien plus efficace fut l'amputation de la partie (queue) pratiquée même 5 heures après l'infection.

4° Très efficace et pratique enfin se montra l'hyperémie à la Bier obtenue à l'aide de l'application de la bande élastique, car elle aurait sauvé tous les animaux (rats, lapins et chiens) même si l'on l'a pratiquée 4 heures après l'infection.

Nachdruck verboten.

Nochmals über die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Sassari.]

Von Prof. C. Fermi.

In der vorigen Arbeit¹⁾ wurde der große Unterschied der Virulenz des fixen Virus der verschiedenen antirabischen Institute Italiens auf die Muriden bei subkutaner Impfung gezeigt, und zwar so, daß das Virus von Sassari, und vielleicht auch das von Palermo und Messina, eine Sterblichkeit von 100 Proz., das von Rom und Turin nur eine solche von 66 Proz. ergab.

Pergola sagt in seinem Aufsatz „Ueber die Uebertragung der Tollwut durch subkutane Impfung der gewöhnlichen Versuchstiere mit fixem Virus²⁾“, auf unrichtige Berechnung gestützt, zuerst auf p. 16, daß ich eine durchschnittliche Sterblichkeit von bloß 85 Proz. erreicht habe. Er sagt:

„Fixes Virus von Turin	75	Proz.
„ „ „ Neapel	85	„
„ „ „ Rom	95	„
„ „ „ Mailand	80	„

Wenn man das vom fixen Virus von Faenza ergebene Prozent gleich 80 und dasjenige des fixen Virus von Sassari gleich 85 hinzurechnet, so haben wir 6 sich auf Virus verschiedener Herkunft beziehende Werte, welche untereinander nur leichte Unterschiede aufweisen.“

Er fährt dann auf p. 16 und 19 folgendermaßen fort:

„Ich habe keine so starken Unterschiede aufzuweisen wie Fermi, und es sind meiner Ansicht nach die beobachteten nicht so sehr vom fixen Virus als von den Ratten selbst in Abhängigkeit zu bringen, die nicht immer für die subkutan einverleibte Wutsucht empfänglich sind.“

Ferner:

„Da es sich aber um Tiere handelt, die für die Tollwut bei subkutaner Impfung mit fixem Virus nicht immer empfänglich sind, so ist leicht ersichtlich, daß auch rein zufällig, beispielsweise unter den wenigen mit einem bestimmten Virus infizierten Tieren eine hohe Prozentzahl von nicht empfänglichen Tieren sich befunden haben könne.“

Auf p. 20 folgt diese sonderbare Aeüßerung:

„Die wechselnde Virulenz des fixen Virus je nach seiner Herkunft äußert sich im wesentlichen in der verschieden langen Zeit des Ausschlags, nicht aber in der prozentischen Sterblichkeitsziffer der infizierten Tiere.“

1) Fermi, C., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. Heft 2.

2) Pergola, M., Atti della Accad. dei Fisiocritici di Siena. 1908. No. 12.

Man sieht daraus, daß dieser Autor auch meine Spezialarbeit über „Die Empfänglichkeit der Muriden der subkutanen Wutinfektion gegenüber“ gar nicht berücksichtigt hat, wo es auf p. 26 heißt: „Fast alle Muriden, und zwar 527 mit fixem Virus des antirabischen Institutes in Sassari infizierte Tiere, sind an Wutsucht gestorben.“

In dieser Arbeit sind ferner alle Versuche gesammelt, bei deren Durchsicht Pergola erfahren haben würde, daß unter 361 Ratten nur 2 am Leben blieben, die Sterblichkeit also 99,5 Proz. betrug, und daß unter 293 Mäusen keine einzige am Leben blieb, also Sterblichkeit gleich 100 Proz.

In allen meinen späteren Arbeiten kehrte immer dieselbe Sterblichkeitsziffer wieder, und weder ich, noch andere haben jemals von einer 85 Proz. betragenden Sterblichkeit gesprochen¹⁾.

Nachdem er sich die Sachen so zurechtgelegt, sagt Pergola auf p. 16, daß die Sterblichkeit bei Infektion mit Turiner fixem Virus gleich 75 Proz. ist, mit Virus von Rom 95 Proz., statt 66 Proz., daß dieses Virus also dieselbe Wirkung äußerte, wie das Virus von Sassari.

Es ist sehr leicht möglich, daß Pergola durch Arbeiten mit sehr jungen Tieren eine größere Sterblichkeit mit Turiner und römischem Virus erzielt hat. Auch ich habe vor Pergola durch Experimentieren mit römischem Virus an sehr jungen Mäusen eine Sterblichkeit von 100 Proz. gehabt. Es sind aber, wie wir sehen werden, junge Tiere durchaus ungeeignet, um Unterschiede zwischen verschiedenem Virus aufzudecken, ebenso wie die subdurale Infektion nicht dazu taugt.

Auf p. 9 meiner schon zitierten Arbeit „Ueber die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten“ heißt es ja: „Das nämliche fixe Virus aus Rom tötete dagegen alle jungen Mäuse, mit einer Sterblichkeit also gleich 100 Proz. Die jungen weißen Mäuse erwiesen sich als viel empfindlicher als die erwachsenen.“

Während aber jetzt die Sterblichkeitsziffer für Turiner und römisches Virus 66 betrug, belief sie sich für das Virus von Sassari auf 100. Es ist also der Schluß Pergolas irrtümlich, den er sowohl auf die irrige Annahme, daß mein Virus eine Mortalität von nur 85 Proz. bewirkt, als auch auf der Anwendung von jungen Tieren fußt, die eher ein Mittel ist, die Unterschiede der Virulenz verschiedener Virus zu verwischen, als sie zutage zu fördern. Uebrigens wurden meine Schlußfolgerungen über den großen möglichen Unterschied in der Virulenz des Virus verschiedener Institute auch in den antirabischen Instituten von Paris, Berlin und Wien bestätigt. Diese im Ausland angestellte Vergleichung der Virulenz meines Virus und des Virus anderer Anstalten hat um so größeren Wert, als mein fixes Virus durch die Reise an Virulenz eher eingebüßt als zugenommen haben dürfte.

Die Schlüsse der ausländischen Experimentatoren sind folgende:

Marie vom antirabischen Institut in Paris experimentierte mit meinem Virus und veröffentlichte im „Bulletin de l'Institut Pasteur“, 15. September 1908, No. 17 Folgendes:

„Nous avons pu nous assurer nous-même, grâce à la complaisance de M. Claudio Fermi, qui a mis ce virus à notre disposition, de l'extrême sensibilité de la souris et du rat blancs au virus fixe de Sassari.“

Des expériences anciennes nous avoient donné seulement 20 % de réussites avec le virus fixe de Paris, inoculé à la souris.“

1) Fermi, C., Die Empfänglichkeit der Muriden etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. Heft 2; Virchows Arch. f. patholog. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med.)

Schindler¹⁾ gelangte nach Kontrollierung meines Versuches im Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin in seiner Arbeit zu folgenden Schlüssen: „23 auf diese Weise infizierte weiße sowie 10 graue Mäuse gingen sämtlich an Tollwut ein.

„Meine Untersuchungen haben somit ergeben, daß das Virus fixe von Sassari Muriden mit Sicherheit bei subkutaner Impfung tötet, in dieser Beziehung also dem Berliner Virus fixe überlegen ist.

„Die Tiere, die auf das Berliner Virus fixe nicht reagiert hatten, zeigten sich auch bei wiederholten Impfungen mit diesem Virus refraktär.

„Dagegen erlagen sie alle ohne Ausnahme einer 2—3 Monate später vorgenommenen Injektion mit Fermischem Virus!

„Im Vergleich mit den Fermischen Angaben erwies sich also das Berliner Virus nicht nur hinsichtlich der Mortalität als weniger virulent als das Virus fixe von Sassari, sondern auch unter Berücksichtigung der Zeitdauer, die zwischen Impfung und Tod liegt.“

„Kraus und Fukuhara²⁾, welche ebenfalls meine Versuche am serotherapeutischen Institut in Wien kontrollierten, kamen in ihrer Arbeit „Ueber das Lyssavirus Fermi“ zu folgenden Schlüssen:

„Das Verhalten des Lyssavirus Sassari stand im Widerspruch zu den bisherigen Erfahrungen.

„Zunächst konnten wir in Bestätigung der Angaben Fermis finden, daß das Virus fixe Sassari imstande ist, bei Mäusen, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen von der Subcutis aus Lyssa zu erzeugen.

„Im Gegensatze zu diesem Virus vermag das Virus fixe de Wiener (Institut Pasteur, Paris) und ein im hiesigen Institute erzeugtes Virus fixe (Hruda) nach subkutaner Einverleibung bei Kaninchen, Meerschweinchen, Mäusen, Ratten entweder gar nicht oder nur inkonstant Lyssa hervorzurufen.

„Es besteht demnach kein Zweifel, daß sowohl Straßenvirus, wie Fermi zeigt, als auch Virus fixe einzelner Institute von der Subcutis aus als infektionstüchtig sich erweist, daß Virus fixe (z. B. Bukarest, Wien, Budapest) diese Eigenschaft in dem Maße nicht besitzt.“

Wenn ihm übrigens diese Arbeiten unbekannt sein sollten, würde es genügen, daß er folgenden Abschnitt auf p. 319 der jüngsten Arbeit von Galli-Valerio³⁾ liest:

„Les expériences de Fermi étaient plus tard confirmée à Paris par Marie qui, avec le virus fixe de Sassari, infectait par inoculation sous-cutanée le 100 % des souris, tandis qu'avec celui de Paris il n'en infectait que le 20 %, à Berlin par Schindler qui, avec le virus fixe de Sassari, infectait par voie sous-cutanée le 100 % des souris qu'avec le virus fixe de Berlin il n'arrivait à infecter que le 50 % de souris blanches, le 20 % des grises et le 33,3 % des rats (moyenne 37,6 %).“

Es hätte übrigens genügt, daß Pergola sich erinnerte, daß ich fast stets die das fixe Virus der anderen Institute überlebten Muriden mit dem Virus von Sassari geimpft habe und daß alle ohne Ausnahme eingingen (was übrigens auch Schindler nach Infizierung der dem Berliner Virus entgangenen Muriden beobachtete), so würde er nicht in ungenaue Angaben gefallen sein.

Auf p. 6 meiner oben zitierten Arbeit heißt es nämlich:

1) Schindler, H., Ueber Tollwutimpfungen an Muriden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61. 1908.)

2) Kraus, R., u. Fukuhara, Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 21. No. 49.

3) Galli-Valerio, C., Recherches expérimentales sur la rage des rats. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 3.)

Da nun alle Muriden dem fixen Virus der anderen Institute widerstanden, wurden sie des Vergleiches halber mit dem fixen Virus des antirabischen Institutes zu Sassari geimpft.

Versuch 6: Am 31. Januar 1906 impfte ich subkutan mit fixem Virus aus Sassari die 4 weißen Ratten, die nach den Einspritzungen mit fixem Turiner Virus am Leben geblieben waren.

Resultat: Sämtliche Tiere gingen nach 7—8 Tagen an der Tollwut zugrunde. Die 4 Ratten, welche nach dem Einspritzen des Turiner fixen Virus am Leben blieben, gingen nach den Einspritzungen mit jenem von Sassari zugrunde.

Versuch 6: Am 6. Februar 1906 werden die 4 weißen Mäuse, welche die Einspritzungen mit fixem Virus aus Florenz überlebt haben, mit fixem Virus aus Sassari geimpft (subkutan).

Resultat: Die Tiere gehen in 6—7 Tagen an der Wut zugrunde.

Versuch 7: Am 20. Februar 1906 wird die weiße Ratte, die am 28. Januar mit fixem Virus aus dem Institute zu Florenz geimpft war, mit fixem Virus aus Sassari geimpft.

Resultat: Das Tier verendet nach 9 Tagen an der Tollwut.

Gegenversuch: Als Gegenprobe impfte ich die ersten überlebenden 7 Tiere nach den Einspritzungen mit römischem Virus mit fixem Virus aus Sassari.

Resultat: Sämtliche Tiere gehen in 7—9 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Sonderbar ist ferner folgender Schluß Pergolas: „Wenn wir die Tiere auf subduralem Wege infizieren oder bei Einhaltung der subkutanen Impfung Tiere wählen, die wegen gewisser Bedingungen empfindlicher sind (junge Meerschweinchen oder Kaninchen), so erhalten wir mit jedem Virus eine Sterblichkeit gleich 100 Proz.“

Das wiederholt er an anderem Orte folgendermaßen: „Wenn die im vorstehenden Paragraphen gestellte Bedingung erfüllt wird (nämlich die des jungen Alters), so ist die erzielte Sterblichkeit, woher immer das angewandte Virus stammt, 100 Proz. oder wenig davon verschieden.“

Dies ist nun zwar eine Tatsache, allerdings keine neue, da, wie oben erwähnt, ich sie selbst schon angeführt habe, so wäre es doch sonderbar, wenn wir sie benützten, um die Virus zu unterscheiden. Ebenso sonderbar wäre es, wenn wir, um Unterschiede aufzudecken, gerade jenen Weg der Infektion, jene Tiere und jenes Alter wählten, bei denen die zu unterscheidenden Virus sich gleich verhalten. In der gleichen Weise nun, wie die subdurale Infektion zur Unterscheidung des Virus ungeeignet ist, weil sie für alle Virus fixe eine Sterblichkeit von 100 Proz. ergibt, ist auch die Anwendung von ganz jungen Tieren zu verwerfen, welche in dem Maße von 100 Proz. ohne Unterschied nach der Art des angewandten Virus getötet werden.

Auch hätte er bei Anwendung von jungen Mäusen, wie oben erwähnt, eine Sterblichkeit von 100 Proz. statt einer solchen von 66 Proz. zu verzeichnen gehabt und hätte keinen Unterschied zwischen dem Virus von Rom, Turin und Sassari gesehen.

Kurz, es wäre dasselbe gewesen, wenn Pergola zum Unterscheiden von *B. coli* von *B. typhi* gerade jenes Mittel gewählt hätte, welches in gleicher Weise das Wachstum beider Keime hemmt.

Wenn Pergola aber wirklich entscheiden wollte, ob es einen Unterschied gibt zwischen dem einen und dem anderen Virus, so mußte

er mit erwachsenen Tieren und mit starken Verdünnungen (z. B. 1 : 50 000) der verschiedenen Virus arbeiten.

Eben dadurch, daß ich mit erwachsenen Tieren, nicht mit ganz jungen Tieren, wie Pergola, arbeitete, war ich in der Lage, mein Virus von den anderen zu unterscheiden. So sah ich, daß mein Virus zum Unterschiede von diesen nicht nur alle Muriden jeden Alters, sondern auch Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde tötet. Auf p. 8 eines Aufsatzes von mir heißt es ja als Schlußfolgerung:

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß das frische fixe Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari nicht nur sämtliche Muriden, sondern auch sämtliche Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde, die mittels desselben subkutan infiziert werden, durch die Tollwut tötet, ohne irgendeine Verspätung bezüglich der Inkubationsperiode aufzuweisen.

Auch bei starker Verdünnung, und zwar bei einer solchen von 1 : 50 000 und mehr, tötet mein fixes Virus nicht nur die Muriden, sondern auch Kaninchen, Hunde und Meerschweinchen. Darüber gelangte ich zu folgender Schlußfolgerung:

Aus diesen Versuchen ergibt sich folglich, daß das fixe Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari, subkutan geimpft, auch Kaninchen und Meerschweinchen gegenüber virulent ist, und zwar sogar bei der Verdünnung von 1 : 70 000—80 000; die Verspätung der Inkubationsperiode betrug 3—4 Tage bei Kaninchen und 10—11 Tage bei Meerschweinchen. Das fixe Virus anderer Institute soll gewöhnlich, auch auf subduralem Wege injiziert, nur bis 1 : 10 000 virulent sein.

Pergola scheint entschlossen, mich auf keiner Seite unangegriffen zu lassen. Auf p. 20 schreibt er: „Die von Fermi gemachte Annahme, daß das Virus des Kontinentes auf die Inseln gebracht, bei subkutaner Impfung an Virulenz für die Muriden zunehme, scheint nicht gerechtfertigt zu sein.“

Die Bedeutung, welche dieser Aeüßerung beigemessen wird, könnte den Leser annehmen lassen, daß ich eine solche Annahme warm verteidigt, separat veröffentlicht oder ihr doch ein Kapitel oder doch wenigstens einen Schlußsatz gewidmet hätte. Aber nichts davon. Diese Aeüßerung findet sich gar nicht im Text der Arbeit, sondern in einer Fußnote, ja sogar nur als ein Teil einer Fußnote auf p. 12. „Es scheint fast, als ob das Virus des Kontinents, in den Inseln gezüchtet, bei subkutaner Impfung an Virulenz gewänne. Denn während die Virus von Sassari, Palermo und Messina bei Muriden eine Sterblichkeit von 100 Proz. ergeben, verzeichnet man mit ihnen in den Bezugsanstalten (Turin für das Sassari-Virus und Neapel für das Palermo-Virus) eine Sterblichkeit von bloß 66 bzw. 33 Proz.“ Wie man sieht, beginnt diese Aeüßerung gleich mit einem „scheint“ und einem „fast“. Durch den Ausdruck „in den Inseln gezüchtet“ waren ferner natürlich die örtlichen Kaninchenrassen verstanden, die sehr klein sind, und die mir empfänglicher schienen als andere vom Kontinent bezogenen.

Nachdruck verboten.

„Anios“. Ein neues Desinfektionsmittel.

Von Dr. E. Tomarkin,

Vorsteher der Vaccine-Abteilung am Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.

Unter dem Namen „Anios“ wird seitens einer französischen Firma ein Präparat in den Handel gebracht, das hauptsächlich für die Großdesinfektion — Schlachthöfe, Schulen, Kasernen, Stallungen, Eisenbahnwagen usw. — bestimmt ist und auch als Desodorans empfohlen wird.

Das „Anios“ stellt eine klare, grünlich schillernde Flüssigkeit dar, die im konzentrierten Zustande ziemlich stark nach Formaldehyd riecht. Anios soll in den gebräuchlichen Konzentrationen ungiftig sein und bei der Desinfektion keinen Geruch hinterlassen.

Wegen dieser angepriesenen Eigenschaften und namentlich im Hinblick darauf, daß das Präparat bei der Großdesinfektion an Stelle jener Mittel treten soll, die wegen ihrer giftigen Eigenschaften oder wegen belästigenden Geruchs eine nur beschränkte Anwendung finden können, schien es mir von Interesse, den Desinfektionswert der Substanz zu untersuchen.

Die Prüfung erstreckte sich sowohl auf die Feststellung der bakteriziden wie der wachstumshemmenden Fähigkeiten des Präparates. Ueber die Resultate dieser Prüfung möchte ich im folgenden kurz berichten.

Die keimtötenden Eigenschaften der Substanz „Anios“.

Versuchsordnung:

Gutgewachsene Schrägagarkulturen von *Staphylococcus pyog. aureus*, Typhus-, Coli- und Diphtheriebacillen und sporenhaltigen Milzbrandbacillen werden in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig aufgeschwemmt und 0,2 ccm dieser Emulsion in 10 ccm der betreffenden Desinfektionslösung — es werden 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4 und 5-proz. Lösungen hergestellt — übertragen. Nach 5, 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten Einwirkungsdauer wird je eine Oese desinfiziertes Material in 10 ccm Bouillon und 10 ccm verflüssigten Agar verimpft und mit letzterem Platten gegossen. Die Kulturen verbleiben bei täglicher Beobachtung eine Woche im Brutschrank.

Die Resistenz des zu den Versuchen benutzten Staphylokokkenstammes ergibt sich aus nachstehender Prüfung.

Aufschwemmungen des *Staphylococcus* werden bei Erwärmung auf 75° C innerhalb 40—60 Minuten abgetötet.

An Seidenfäden angetrocknet, erliegt er der Einwirkung des strömenden Dampfes innerhalb 10—20 Minuten.

In der gleichen Weise präpariert, erfolgt seine Abtötung in 0,25-prom. Sublimat und 0,33-proz. Formaldehyd in 150—220 Minuten, in 0,5-proz. Thymol in 120—180 Minuten.

Wässrige Aufschwemmungen des *Staphylococcus* werden in 0,25-prom. Sublimat in 165—210 Minuten abgetötet, in 0,33-proz. Formaldehyd in 180—195 Minuten und in 0,5-prom. Thymol in 135 bis 160 Minuten. Es handelte sich demnach um einen Stamm von hoher Resistenz.

Die Prüfung der keimtötenden Wirkung der Substanz ergab im einzelnen folgendes.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Die 1-prom. Lösung bedingt nach zweistündiger Einwirkung eine schwache Keimverminderung gegenüber der Kontrollplatte. In der 0,5-proz. Lösung tritt eine erhebliche Keimverminderung schon nach 5 Minuten ein, nach 90 Minuten Einwirkungsdauer ergeben die Platten nur noch Wachstum von vereinzelt Kolonien. Völlige Sterilisation tritt bei dieser Konzentration jedoch nicht ein.

Die 1- und 2-proz. Lösung bietet ungefähr die gleichen Verhältnisse wie die 0,5-proz. In der 3-proz. Lösung ist die Keimverminderung schon nach kurzer Einwirkungsdauer eine auffällige. Gänzliche Abtötung erfolgt bei einer Einwirkungsdauer von 90 Minuten nicht.

Die 4-proz. Lösung ergibt nach 5 Minuten Einwirkung eine außerordentlich starke Keimverminderung, nach 15 Minuten enthält die betreffende Platte nur noch wenige Kolonien, nach 15 Minuten sind sämtliche Keime abgetötet.

Die 5-proz. Lösung hat ungefähr die gleiche Wirksamkeit wie die 4-proz.

Ergebnis: Staphylokokken erfahren schon in der 0,5-proz. Lösung nach einer relativ kurzen Einwirkungsdauer eine erhebliche Keimverminderung. Die 4-proz. bzw. 5-proz. Lösung tötet die Bakterien innerhalb 30 Minuten vollkommen ab.

Colibacillen.

Die 1-prom. Lösung läßt eine schwache Keimverminderung nach längerer Einwirkungszeit erkennen.

In der 0,5-proz. Lösung tritt eine erhebliche Keimverminderung schon nach 5 Minuten ein. Nach 30 Minuten Einwirkung ergaben die Platten nur noch wenige Kolonien, nach 60 Minuten erfolgte völlige Abtötung.

Die 1-proz. Lösung verhält sich ungefähr wie die 0,5-proz.

Die 2-proz. Lösung zeigt eine auffällige Keimverminderung nach relativ kurzer Einwirkung und vollständige Sterilisation innerhalb 15 Minuten.

In der 3-, 4- und 5-proz. Lösung erfolgt die Abtötung innerhalb 5 Minuten.

Ergebnis: Coli-Bacillen erfahren in der 0,5- und 1-proz. Lösung eine erhebliche Keimverminderung nach relativ kurzer Einwirkungsdauer und werden nach 60 Minuten abgetötet. In der 2-proz. Lösung erfolgt die Abtötung nach 15 Minuten, in der 3-, 4- und 5-proz. Lösung nach 5 Minuten.

Typhusbacillen.

Die 0,1-prom. Lösung zeigt eine geringfügige Keimverminderung nach 120 Minuten.

In der 0,5-proz. Lösung macht sich die Keimverminderung nach 5 Minuten bemerkbar, völlige Abtötung erfolgt nach 60 Minuten.

Die 1-proz. Lösung verhält sich wie die 0,5-proz.

In der 2-proz. Lösung erfolgt die Abtötung nach 15 Minuten, in der 3-, 4- und 5-proz. Lösung in 5 Minuten.

Ergebnis: Die 0,5-proz. und 1-proz. Lösung töten Typhusbacillen innerhalb 60 Minuten ab, die 2-proz. nach 15 Minuten, die 3-, 4- und 5-proz. nach 5 Minuten.

Diphtheriebacillen.

In der 0,1-prom. Lösung findet schwache Keimverminderung statt. Die 0,5-proz. Lösung wirkt erheblich keimvermindernd nach kurzer Einwirkungsdauer. Völlige Abtötung erfolgt nach 60 Minuten.

Aehnlich verhält sich die 1-proz. und 2-proz. Lösung.

In der 3- und 4-proz. Lösung ist die Keimverminderung schon nach 5 Minuten eine sehr auffällige, völlige Sterilisation erfolgt nach 15 Minuten.

Die 5-proz. Lösung tötet die Bakterien nach 5 Minuten ab.

Ergebnis: Die 0,5-, 1- und 2-proz. Lösungen töten Diphtheriebacillen nach 60 Minuten ab, die 3- und 4-proz. Lösung nach 15 Minuten, die 5-proz. nach 5 Minuten.

Milzbrandbacillen.

Die Ergebnisse der Versuche mit Milzbrandbacillen waren scheinbar sehr günstige. Neben einer Keimverminderung, die schon in der 0,5-proz. Lösung deutlich zutage trat, wurde in der 1-proz. Lösung eine Abtötung nach 2 Stunden, in der 2-proz. Lösung nach 60 Minuten und in der 3-proz. nach 30 Minuten konstatiert, während die 4- und 5-proz. Lösung, trotz der großen Menge des übertragenen Testmaterials, überhaupt kein Wachstum ergaben. Es muß jedoch bei diesem auffälligen Resultate hervorgehoben werden, daß Versuche mit Milzbrandbacillen wegen der Schwierigkeit, gleichmäßige Emulsionen herzustellen, der schwankenden Resistenz verschiedener Stämme und der geringen Widerstandsfähigkeit der vegetativen Formen mehrmals wiederholt werden müssen, wenn sie als einwandfrei gelten sollen.

Die wachstumshemmenden Eigenschaften der Substanz „Anios“.

Versuchsordnung:

Zu 10 ccm Bouillon wird das Desinficiens in solchen Mengen beigegeben, daß Lösungen von 1:500, 1:1000, 1:5000 und 1:10000 entstehen, welche mit den oben angeführten Bakterienarten geimpft werden. Die Kulturen verbleiben längere Zeit bei Bruttemperatur und werden hinsichtlich eines stattgefundenen Wachstums in jeder Weise genau kontrolliert.

Ergebnis: Der Versuch ergab, daß Wachstumshemmungen bei allen Bakterienarten nur in den Konzentrationen bis 1:1000 eingetreten waren.

Zusammenfassend

ergiebt eine Durchsicht der Notizen und der zugehörigen Tabellen, daß die Substanz „Anios“ über recht erhebliche desinfektorische Eigenschaften verfügt. Die 0,5-proz. Lösung bedingt bei allen zum Versuch herangezogenen Bakterienarten innerhalb relativ kurzer Einwirkungsdauer eine starke Keimverminderung. In der 1- und 2-proz. Lösung erfolgte Abtötung sämtlicher Testobjekte, mit Ausnahme von Staphylokokken, innerhalb 30—120 Minuten. Die 3-proz. Lösung tötet Coli- und Typhusbacillen sofort ab, Milzbrand- und Diphtheriebacillen nach 30 Minuten. In der 4-proz. Lösung wurden Staphylokokken nach 30 Minuten und Diphtheriebacillen nach 15 Minuten abgetötet. Die 5-proz. Lösung ergibt eine Abtötung der Diphtheriebacillen nach 5 Minuten und der Staphylokokken nach 15 Minuten.

Ueber die Leistungen der Substanz als Desodorans haben wir nur wenige Versuche angestellt; es scheint jedoch, daß das Präparat auch in dieser Richtung günstig wirkt.

Anios in 0,5-proz. Lösung.

Dauer der Einwirkung	Staph. aureus		Colibacillen		Thyphusbac.		Milzbrand		Diphtherie		
	Agar Kolon.	Bouill.	Agar Kolon.	Bouill.	Agar Kolon.	Bouill.	Agar Kolon.	Bouill.	Serum	Agar Kolon.	Bouill.
5 Minuten	16 200	W.	8 100	W.	300	W.	120	W.	W.	480	W.
15 "	3 000	W.	85	W.	2	W.	4	W.	W.	34	W.
30 "	1 200	W.	60	W.	3	W.	2	W.	W.	16	W.
60 "	240	W.	0	0	0	0	2	W.	0	0	0
90 "	20	W.	0	0	0	0	6	W.	0	0	0

Anios in 1-proz. Lösung.

5 Minuten	8 100	W.	27 000	W.	6 480	W.	600	W.	W.	300	W.
15 "	2 300	W.	21 000	W.	3 240	W.	10	W.	W.	180	W.
30 "	700	W.	1 300	W.	900	W.	0	W.	W.	82	W.
60 "	153	W.	0	0	0	0	0	W.	0	0	0
120 "	5	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anios in 2-proz. Lösung.

5 Minuten	23 700	W.	1 000	W.	20	W.	300	W.	W.	1 200	W.
10 "	12 550	W.	480	W.	0	0	205	W.	W.	830	W.
30 "	3 100	W.	0	0	0	0	150	W.	W.	210	W.
60 "	750	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120 "	46	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anios in 3-proz. Lösung.

5 Minuten	2 400	W.	0	0	0	0	2	W.	W.	260	W.
15 "	600	W.	0	0	0	0	2	W.	W.	85	W.
30 "	360	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60 "	80	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90 "	11	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anios in 4-proz. Lösung.

5 Minuten	300	W.	0	0	0	0	0	0	W.	80	W.
15 "	18	W.	0	0	0	0	0	0	W.	10	0
30 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anios in 5-proz. Lösung.

5 Minuten	420	W.	0	0	0	0	0	0	W.	150	W.
15 "	150	W.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

W = Wachstum, 0 = kein Wachstum.

Nachdruck verboten.

Einige Modalitäten der Technik in der Ausführung der Wrightschen Agglutinationsreaktion.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut des städtischen Krankenhauses zu Palermo (Direktor: Prof. G. Pollaci).]

Klinisch-bakteriologische Mitteilung.

Von Dr. G. Pollaci, Dozenten der path. Anat. u. der spez. med. Pathologie.

Seit ca. zwei Jahren ist in unserem Laboratorium die Frage der Mediterraninfektion Gegenstand verschiedenartiger und zahlreicher Untersuchungen durch mich und meine Assistenten gewesen. Unsere Forschungen waren dabei außer auf die Morphologie und Biologie des *Micrococcus melitensis* auf das Studium der Hilfsmittel gelenkt, welche in der klinischen Diagnose dieses proteiformen Infektionsfiebers verwertet werden könnten.

In dieser Hinsicht hat sich so nach und nach ein nicht geringes Material an Beobachtungen über das bakteriologische Studium des peripheren Blutes der Kranken mit Maltafieber und die Wrightsche Agglutinationsreaktion angehäuft.

Auf diese diagnostische Probe haben wir nun am meisten unsere Aufmerksamkeit gerichtet, da es sich hierbei um eine Untersuchungsmethode handelt, welche durch die Leichtigkeit der Technik eine ausge dehnte klinische Anwendung gefunden hat.

Ihre Nützlichkeit ist, wie man wohl sagen kann, heute fast allgemein anerkannt; immerhin existieren noch Beobachter, welche den klinischen Wert dieser Reaktion stark in Zweifel ziehen, so Bentley, Konrich, Brault und neuerdings auch Lucibelli.

Wenn zwar die negativen Untersuchungen dieser Forscher eine Untersuchungsmethode nicht zu stürzen imstande sind, welche so zahlreiche Bestätigungen empfangen hat, so rechtfertigen sie doch immerhin das Auftreten einiger Zweifel und Vorbehalte, welche zum Teil die Einwurfsfreiheit dieser Reaktion schwächen können.

Daher kann die Frage der Serumdiagnose beim Maltafieber nicht als abgeschlossen betrachtet werden, und die Studien, die namentlich im klinischen Gebiet darauf gerichtet sind, die Spezifität und Empfindlichkeit der Erscheinung besser festzustellen, können auch jetzt nach ungefähr 12 Jahren, seitdem die Reaktion in die klinische Praxis eingetreten ist, des Interesses nicht ermangeln.

Wir haben Gelegenheit gehabt, eine beträchtliche Anzahl von Serumdiagnosen auszuführen, einige bei Kranken mit Mediterranfieber unseres Hospitals, andere auf Ersuchen von Kollegen bei Patienten der Privatpraxis.

Auf diesem weiten Gebiet der Beobachtungen haben wir nicht wenige Kenntnisse sammeln können, von denen einige die Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit der Erscheinung, andere die Technik betreffen.

Ueberzeugt, daß eine gute Technik die wesentlichste Garantie für die Einwurfsfreiheit einer Reaktion ist, haben wir in der Hinsicht zahlreiche Untersuchungen angestellt.

In dieser Mitteilung beschränke ich mich darauf, kurz über einige von uns erprobte und sorgfältig kontrollierte Modalitäten der Technik

zu berichten, deren Kenntnis zur Sicherung der Genauigkeit der Agglutinationsreaktion von dem größten Nutzen ist.

Die für die Bewertung der Agglutinationsreaktion verwendeten Methoden sind zwei, die makroskopische und die mikroskopische.

In einer Erscheinung biologischer Ordnung, die aber dem Gang einer chemischen Reaktion sehr nahe kommt, existieren zwei zu ihrem Eintritt notwendige Faktoren, das sogenannte Reagens (Serum) und der Reaktionsstoff (Bakterienmischung oder -Kultur).

In bezug auf das erste Element haben unsere Untersuchungen nichts an der gewöhnlichen Technik, betreffend das Gewinnen des Serums aus wenigen Blutropfen, die durch einen Stich dem Finger, dem Ohr-läppchen oder aus den Venen eines Armes entnommen werden, zu ändern.

Was den Reaktionsstoff, Bakterienmischung oder -Kultur anbelangt, so haben wir Gelegenheit gehabt, in vergleichenden Untersuchungen zu beobachten, daß für die richtige Bewertung der Resultate der Gebrauch der Bouillonkulturen nicht die geeignetste Methode ist.

Die Bouillon zeigt in der Tat aus leicht verständlichen Gründen nicht immer die gleiche qualitative und quantitative Zusammensetzung an Salzen, wodurch der Eintritt der Agglutination nicht wenig beeinflußt wird, so wie Zanger für die Elektrolyten und Malvoz und Bossaert für an Calciumkarbonat reiches Wasser nachgewiesen haben.

Anstatt der von Pfeiffer und Kolle¹⁾ empfohlenen Bouillonkulturen haben wir, wie ein großer Teil der deutschen Autoren rät, die Emulsion der Agarkultur in NaCl-Lösung zu 0,75 Proz. gewählt.

Dieser Titer der Lösung ist, wie wir uns vergewissert haben, der geeignetste, um sich ein sicheres Gelingen der Erscheinung zu sichern.

Der *Melitensis* bedarf keines schwächeren Verdünnungstiters wie z. B. der *Paratyphus B*, welcher nach den Untersuchungen von Levi della Vida sich spontan in der Lösung 0,65 Proz. agglutinieren kann und daher die Salzmischung 0,20 Proz. nötig hat.

Zwecks Vergleich haben wir die Bouillonkulturen verwendet, wobei diese entweder bereits entwickelt oder noch zu entwickeln waren; in diesem Fall ist es notwendig, ein aseptisch gewonnenes Serum zu benutzen, um mögliche Verunreinigungen zu vermeiden, welche die Empfindlichkeit der Erscheinung verdecken würden.

Mit diesem zweiten technischen Verfahren, nämlich Zusatz von Serum in sekundär geimpfte Bouillonröhrchen, haben wir nicht die gleichmäßige Trübung der Bouillon wahrgenommen, wie man sie gewöhnlich in der ersten Entwicklungsperiode des *Melitensis* erhält, sondern die Bildung von vielen Klümpchen, welche, sich allmählich vergrößernd, auf den Boden des Reagenzglases präzipitieren.

Bei Untersuchung dieser Klümpchen unter dem Mikroskop wurde die sogenannte Filamentreaktion, die bei den bacillären Formen leicht erhältlich ist, nicht wahrgenommen.

In den bereits seit 48 Stunden entwickelten Bouillonkulturen wurde stets die Agglutination des Parasiten erhalten, ebenso in den Kulturen in den Peptonsalzlösungen zu 2 Proz., aber sowohl in den ersteren wie in letzteren haben wir einige Male eine spontane Agglutination zu be-

1) Verfasser irrt sich insofern, als gerade Pfeiffer und Kolle die Bouillonkulturen als wenig geeignet für die Agglutination bezeichnet und Agarkulturaufschwemmungen verwandt haben.

klagen gehabt, die zwar nicht sehr ausgeprägt, aber doch hinreichend war, um die mikroskopische Bewertung der Erscheinung zu behindern.

Diese spontane Agglutination ist niemals eingetreten bei Verwendung von Emulsionen von Agarkultur in Salzlösung zu 0,75 Proz.

Die Ursache hiervon ist, glaube ich, außer auf die veränderliche Anwesenheit von Salzen in der Bouillon auf die veränderliche Menge des in der Nährflüssigkeit entwickelten *Micrococcus* zurückzuführen, welche, wie ich gleich sagen werde, von Einfluß auf die Entstehung der Mikrobenagglutination ist.

Aus diesem Grunde gebe ich bei Untersuchung auf die Erscheinung, um mich vor Fehlerquellen zu sichern, den Mischungen von Bakterienpatina in physiologischem Serum vor den entwickelten oder noch zu entwickelnden Bouillonkulturen den Vorzug.

Zur Sicherung der Genauigkeit in den Resultaten ist die in den Emulsionen zu verwendende Menge von Mikrokeimen nicht gleichgültig. Denn, wie wir uns durch vielfältige Proben vergewissert haben, kann die verschiedene Menge von Mikroben, welche sich in der Emulsion suspendiert finden, den Ausfall der Agglutination modifizieren.

Im allgemeinen ist eine Oese Kultur von 2 mg, zergangen in 2 ccm Lösung, ausreichend. Man bekommt so eine Emulsion, deren Aussehen ähnlich ist der durch den Zusatz von Silbernitrat zu einer Chlornatriumlösung von 0,10 Prom. erzeugten Trübung.

Zum Vergleich kann die von Nicolle vorgeschlagene Mischung dienen: 10 ccm einer 1-proz. Lösung von neutralem Bleiacetat mit Zusatz von 5 Tropfen einer 1-proz. Lösung von Kaliumbikarbonat.

Bei der Untersuchung auf die Agglutinationserscheinung haben wir stets Mischungen den Vorzug gegeben, die mit frisch entwickeltem, nicht über 4 Tage altem *Micrococcus* hergestellt waren; doch haben wir zwecks vollständigen Studiums der Erscheinung auch die mit alten Kulturen hergestellten Emulsionen prüfen wollen.

In der Hinsicht können wir behaupten, daß wir bei Verwendung der alten selbst seit 4 oder 5 Monaten entwickelten Kulturen niemals spontane Agglutination zu beklagen hatten, die von anderen Beobachtern sowohl für den *Melitensis* wie für andere Mikroben wahrgenommen worden ist.

Die alten *Micrococcus*kulturen verhielten sich bei unseren nicht spärlichen Untersuchungen in bezug auf die Erzeugung der Erscheinung wie die jüngeren und lebenskräftigeren Kulturen.

Die verwendeten *Melitensis*-Stämme sind verschiedene gewesen: eine *Micrococcus*probe aus dem Králschen Institut zu Prag, eine wurde mir freundlichst von Prof. Zammit auf Malta zur Verfügung gestellt, eine von Prof. Gabbi in Messina und eine von Prof. De Gixa in Neapel, außerdem 4 *Melitensis*-Stämme, die von uns aus Patienten unseres Krankenhauses mit Maltafieber isoliert worden waren.

Die Agglutinationsreaktion ist bei Verwendung all dieser Proben konstant erhalten worden.

Alle zeigten sich durch das Serum der in Beobachtung gehaltenen Patienten mit Mediterranfieber stark agglutinierbar, mit einer geringen Variante in der Verdünnungszahl.

Recht merkbliche Varianten im Titer der Verdünnung haben wir dagegen jedesmal dann wahrgenommen, wenn die Serumreaktion unter Beobachtung desselben Parasitenstammes analysiert wurde, der aus dem peri-

pheren Blut gewonnen worden war. Dieser zeigte sich stets bedeutend mehr agglutinierbar als die übrigen im Laboratorium vorhandenen *Melitensis*-Stämme.

In diesen Fällen haben wir Verhältnisse stärkster Verdünnungen erzielt.

Diese Tatsache traf jedoch nur allemal dann zu, wenn der aus dem Kranken selbst isolierte *Melitensis* durch sukzessive Ueberführungen in die Kulturböden seine anfängliche Virulenz eingebüßt hatte. Im entgegengesetzten Fall, d. h. wenn für die Reaktion der soeben aus dem Blut desselben Kranken isolierte *Melitensis* ohne Abschwächung der Virulenz verwendet wurde, kam die Agglutination nur bei einer geringeren Verdünnung zustande als bei Benutzung der anderen Laboratoriumsproben.

Dieses besondere Verhalten findet leicht seine Erklärung in der nunmehr durch zahlreiche Untersuchungen — worunter einige höchst wertvolle aus dem Hygienischen Institut von Manfredi, ausgeführt von Morello und Camarrone — festgestellten Tatsache der Gewöhnung der Mikroorganismen an die eigenen Agglutinine, die neuerding auch für Opsonine wahrgenommen worden ist.

Diese *in vitro* konstatierte Gewöhnung kann auch im infizierten tierischen und menschlichen Organismus durch die reichliche Produktion von Agglutininen, welche man im Verlaufe der Krankheit bekommt, eintreten. Prüft man alsdann den direkt aus dem Blute des Patienten gewonnenen Mikroorganismus, ohne daß derselbe alle seine im infizierten Organismus erworbenen biologischen Eigenschaften, darunter die der Gewöhnung an die während des Infektionsprozesses bereits in großer Menge erzeugten Agglutinine, verloren oder abgeschwächt hat, mit dem Serum desselben Kranken, so kann man eine Agglutination nur bei sehr niedrigem Titer bekommen, ja sogar kann dieselbe ausbleiben, eben wegen der durch den Infektionserreger erworbenen Anpassungsfähigkeit an die Agglutinine.

Wenn dann durch sukzessive Ueberführungen in künstliche Nährböden der Mikrobe seine biologischen Eigenschaften der Virulenz und Gewöhnung an die Agglutinine abschwächt oder verliert, so wird die durch das Serum desselben Kranken, aus dem der Krankheitserreger isoliert worden ist, hervorgebrachte Agglutinationserscheinung viel intensiver bei einer viel höheren Verdünnung sein, eben infolge jenes allgemeinen Gesetzes, welches die Agglutinationserscheinung reguliert, wenn auf diese unter Benutzung desselben Parasitenstammes, welcher die Infektion hervorgerufen hat, untersucht wird.

Diese besondere Abnahme der Agglutinierbarkeit der virulenten Bakterien, die von uns fast konstant bei Prüfung des Serums der zur Untersuchung gekommenen Kranken mit Brucenser Infektion beobachtet wurde, ist nicht von sämtlichen Forschern, welche sich mit diesem Gegenstand beschäftigt, wahrgenommen worden.

Einige haben sogar die umgekehrte Erscheinung gefunden, so daß Stefanelli empfiehlt, die *Melitensis*-Kulturen stets jung und möglichst durch Durchführen durch Tiere frisch virulent gemacht zu verwenden.

Diese Verschiedenheit der Resultate läßt sich durch die bei anderen Infektionen, der Typhus- und *Pyocyaneus*-Infektion z. B., angetroffene Tatsache erklären, bei denen virulente Bakterien extrahiert worden sind, die zuweilen positiv, zuweilen negativ auf die Agglutinationsprobe antworten.

Die Untersuchungen von Morello und Camarrone haben diese Inkonstanz in der Agglutinierbarkeit der virulenten Keime aufgeklärt.

Im infizierten Organismus können zwei Eventualitäten eintreten: entweder reagiert der Organismus sofort auf die Infektion durch die rasche Bildung von Agglutininen und alsdann geschieht es, daß die Bakterie gleich von Anfang an gezwungen ist, sich unter dem Einfluß dieser Stoffe zu entwickeln; oder der Organismus reagiert kaum und verspätet durch die Bildung von Agglutininen, welche ihre Wirkung erst dann ausüben, wenn der Mikrobe schon für seine Entwicklung gesorgt hat.

Bei der ersten Eventualität bekäme man eine wenig oder gar nicht empfindliche Bakterie, bei der zweiten einen für die Agglutinationsprobe sehr empfindlichen Parasiten.

Diese Erklärung wird unterstützt durch die von den oben genannten Experimentatoren beobachtete Tatsache, daß der Effekt der wiederholten und längeren Einwirkung der Agglutinine auf die Bakterien ein verschiedener ist, je nachdem diese Stoffe während der Entwicklung der Kulturen oder auf die bereits entwickelten Kulturen einwirken.

Nur im ersten Fall haben sie Abnahme der Agglutinierbarkeit erhalten.

Es ist demnach nicht unwahrscheinlich, daß sich bei der *Melitensis*-infektion aus dem Blut der Patienten zuweilen virulente, für die Agglutinationsreaktion sehr empfindliche Mikrokeime gewinnen lassen und zuweilen nicht, je nachdem die Bildung der Agglutinine am Anfang oder am Ende des Infektionsprozesses erfolgt ist.

Zur Untersuchung auf die Agglutinationserscheinung haben wir sowohl die makroskopische wie die mikroskopische Probe verwendet. Zwischen den beiden Untersuchungsmethoden haben wir Vergleichsuntersuchungen angestellt, um die Empfindlichkeit der beiden Arten der Technik kennen zu lernen.

Die mikroskopische Reaktion ist uns immer empfindlicher ausgefallen als die makroskopische.

Mit der ersteren haben wir positive Reaktionen bei einem doppelt so hohen Verdünnungstiter wie bei der makroskopischen erzielt.

Im allgemeinen muß alles, was mikroskopisch ist, notwendig empfindlicher ausfallen als das makroskopische. In dem speziellen Fall sodann der Parasitenagglutination findet man, daß bei Steigerung der Verdünnung die Intensität der Reaktion abnimmt, folglich die Größe der Bakterienhaufen herabgesetzt und daher die Erscheinung der Sedimentbildung, welche aufs innigste an das Volumen der Mikrobenhaufen gebunden ist und den Anzeiger der makroskopischen Reaktion bildet, fehlt.

Hieraus ergibt sich als Konsequenz, daß eine makroskopische Reaktion bei der Verdünnung von z. B. 1:1000 nicht mehr wahrnehmbar ist, wo die mikroskopische bei der gleichen oder einer noch stärkeren Verdünnung noch empfindlich ist, da die auch kleinen Bakterienhaufen noch für das mit Vergrößerungsmitteln bewaffnete Auge sichtbar sind.

Die Befürchtungen einiger Beobachter in bezug auf die mikroskopische Reaktion, welche sie für weniger empfehlenswert halten als die makroskopische, da sie den subjektiven, individuellen Beurteilungen einen größeren Spielraum läßt, sind unbegründet. Die mit allen Vorsichtsmaßnahmen für die Einwurfsfreiheit der Resultate — sorgfältiges Herstellen des hängenden Tropfens zur Vermeidung der raschen Verdunstungen,

Voruntersuchung der Mikrobenmischung zur Vergewisserung über die Abwesenheit von Pseudoagglutinationen — umgebene mikroskopische Reaktion ist eine höchst empfindliche und zuverlässige Methode.

Zur Vermeidung falscher Deutungen ist es notwendig, als positiv diejenigen Reaktionen anzusehen, bei denen die Parasitenagglutination nicht auf die Ränder allein beschränkt ist, sondern sich gleichmäßig durch den ganzen Tropfen erstreckt und unter Benutzung schwacher Vergrößerungen erkenntlich ist.

Die echte Agglutination setzt im allgemeinen an den Rändern des Tropfens ein, da sie durch die leichte hier stets vorhandene Verdunstung begünstigt wird, verbreitet sich aber in kurzer Zeit durch den ganzen Tropfen und bildet dabei den charakteristischen Archipelag mit kleinen Bakterieninselchen.

Uebrigens kann auch die makroskopische Reaktion zu irrtümlichen Urteilen Anlaß geben, besonders bei dem *Melitensis*. Denn, da es sich um einen nicht sehr beweglichen Parasiten handelt, kann in dem Reagenzglas — nach einer gewissen Zeit (5 oder 6 Stunden) — eine Aufhellung der Flüssigkeitssäule und der nicht agglutinierten Mikrobenabsätze auftreten, welche durch einfache Sedimentbildung zu Boden sinken und eine positive Reaktion vortäuschen, wo diese nicht vorhanden ist.

Das Schütteln des Reagenzglases zu dem Zweck, die Rückkehr der Trübung der Flüssigkeitssäule zu bewirken, welche sich leicht bilden soll, wenn es sich um falsche Anhäufungen handelt, gelingt nicht immer und kann uns demnach nicht immer als Unterscheidungskriterium zwischen einer echten und einer falschen Agglutination dienen.

Die zum Eintritt der Erscheinung notwendige Zeit ist verschieden bei den beiden Reaktionen.

Im allgemeinen bildet sich die Agglutination nicht sehr schnell, weil der *Melitensis*, obwohl er ein beweglicher Parasit ist, doch, wie wir durch besondere Untersuchungen nachgewiesen haben, den letzten Platz der Bakterienbeweglichkeit in der Skala von Carnot und Garnier einnimmt.

Die Schnelligkeit der Agglutination ist nicht nur dem Reichtum der untersuchten Flüssigkeit an Agglutininen, sondern auch der Beweglichkeit des Mikrokeimes, an dem die Reaktion geprüft wird, proportional.

In der Tat sind die am schnellsten agglutinierbaren Bakterien eben die beweglichsten: die Choleravibrionen zeigen bereits nach einer Stunde eine vollständige Agglutination, die Bacillen der Dysenterie, die Meningokokken, die Staphylokokken im allgemeinen haben nicht weniger als 24 Stunden zur Agglutination nötig.

Die Parasitenbeweglichkeit beschleunigt und fördert den Eintritt der Erscheinung, da sie den Kontakt der Bakterienleiber untereinander beschleunigt und begünstigt.

Durch zahlreiche vergleichende Untersuchungen haben wir uns vergewissert, daß man bei der makroskopischen Reaktion des *Melitensis* 24 Stunden warten muß, um eine vollständige Agglutination zu bekommen.

Bei der mikroskopischen sind höchstens 2 Stunden ausreichend. Nach dieser Zeit können die Präparate nicht mehr verwertet werden, da, begünstigt durch die teilweise Verdunstung der Flüssigkeit, eine Bakterienanhäufung gegen das Zentrum des Tropfens einsetzt, welche zuweilen zu Irrtümern in der Beurteilung verleiten kann.

Die von der englischen Kommission für die Bewertung der mikroskopischen Agglutination festgesetzte Höchstzeit von 30 Minuten ist, wie wir wahrgenommen haben, häufig zu kurz.

Die Temperatur von 37—38° fördert den Eintritt der Erscheinung, doch kann die Temperatur der Brutöfen nach dem, was wir zu beobachten Gelegenheit hatten, wenn zwar sie für die makroskopische Beobachtung von Nutzen ist, zuweilen die mikroskopische beeinträchtigen.

Häufig haben wir einzig und allein durch einen gewissen Grad von Verdunstung des Tropfens hervorgerufene Agglutinationen konstatiert, Verdunstung, die nach einem einstündigen Aufenthalt des Präparates im Ofen bei 38° leicht eintreten kann.

Ueber die Art und Weise der Herstellung der Verdünnungen sowohl für die mikroskopische wie für die makroskopische Probe, die Herstellung der mikroskopischen Präparate im hängenden Tropfen, die Färbungsverfahren der agglutinierten Bakterien (Guillemin etc.) haben unsere Untersuchungen nichts zu der gewöhnlichen Technik hinzuzufügen, die ziemlich bekannt und in jedem neueren Hand- und Lehrbuch der Bakteriologie aufgeführt ist.

Nachdruck verboten.

Antwort auf die Bemerkungen von Dr. Weil zu meiner Arbeit „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion des Meerschweinchens“.

Von Prof. Dr. Alfred Pettersson, Stockholm.

Weil macht mir u. a. den Vorwurf, daß ich „eine neue einfache, bisher in wissenschaftlichen Diskussionen nicht gebräuchliche Methode in Anwendung gebracht habe, die darin bestehe, nur eigene spekulative Anschauungen, nicht die Experimente des Bekämpften zu diskutieren“. Ich bin tatsächlich in Zweifel, was damit gemeint ist. Es kommt mir aber vor, als ob Weil glaubt, daß ich an der Wirksamkeit des komplementbindenden Systems gezweifelt hätte. Nichts ist unrichtiger. Ich habe nie bestritten, daß das Komplement aus der leukocytenarmen, infizierten Bauchhöhle größtenteils absorbiert wird — daß keine vollständige Absorption stattfand, gibt Weil selbst zu. Dagegen bin ich der Ansicht entgegengetreten, daß aus den Weilschen Versuchen geschlossen werden kann, daß eine leukocytenreiche Bauchhöhle mit der gleichen Menge Choleravibrionenextrakt komplementarm gemacht wird wie eine leukocytenarme. Die erstere ist schon vor der Infektion reicher an Komplement als die normale, was Weil auch zugibt, und während der Infektion veranlaßt die Anwesenheit der Leukocyten eine gesteigerte Zufuhr von Komplement. Dies beweist die reichliche extracelluläre Granulabildung, die man in der leukocytenreichen Bauchhöhle öfters beobachten kann, die weit größer ist, als man sie jemals bei Infektion einer leukocytenarmen Bauchhöhle hervorrufen kann. Obwohl die Voraussetzung der Versuche Weils sich keineswegs unanfechtbar erwiesen hat, was ihm allerdings unverständlich ist, fordert er eine Wiederholung derselben.

Ich begrüße mit Freude die Erklärung Weils, „daß bei der gewöhnlichen intraperitonealen Cholerainfektion den in den Säften gelösten Bakteriolytinen für die Vernichtung der Vibrionen die ausschlaggebende Rolle zukomme“ und daß es „unter dem Reize der Infektion“ zu einer „Transsudation von komplementhaltiger Flüssigkeit kommen muß“, um

die Vibrionen aufzulösen. Eine solche Anerkennung hätte man kaum erwartet. Nach dieser kommt mir aber der Hinweis auf Metschnikoff etwas sonderbar vor. Während Metschnikoff die Anwesenheit freien Komplements in der mit Bouillon präparierten, leukocytenreichen Bauchhöhle verneint, behauptet Weil dagegen, daß das Komplement anwesend sei, würde aber „nicht in dem Maße wirksam“ sein können wie in der leukocytenarmen. Der Ansicht Metschnikoffs sind viele Untersucher entgegengetreten. Für die von Weil liegt auch kein Beweis vor.

Richtig ist in den Weilschen Bemerkungen, daß ich seine Reagensglasversuche mit Leukocyten nicht speziell berücksichtigt habe. Dies kommt teils davon her, daß Weil keinen Beweis dafür mitgeteilt hat, daß die Granula der Phagocyten wirklich toten Vibrionen entsprachen (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 43, p. 200), teils davon, daß der bei Anwesenheit von Leukocyten im Reagenzglas beobachtete Untergang, soviel ich gefunden habe, unmöglich mit der im Tierkörper verglichen werden kann. In der Bauchhöhle können mehrere Zehner Vibrionen in jedem Phagocyten rasch zugrunde gehen; im Reagensgläschen muß die Einsaat aber sehr klein genommen werden, sonst tritt Vermehrung regelmäßig ein.

Im großen und ganzen scheinen wir, Weil und ich, darüber einig zu sein, daß die Vernichtung der Choleravibrionen im Meerschweinchen durch die Wirkung der Körpersäfte stattfindet.

Nachdruck verboten.

Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehung zur Syphilisreaktion.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser-Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg.]

Von
Prof. Dr. Miessner und **Dr. Trapp,**
 Abteilungsvorsteher. Wissenschaftl. Hilfsarbeiter an
 der Abteilung.

Mit 5 Kurven.

Es ist das große Verdienst von Bordet und Gengou¹⁾, die Komplementbindung, oder wie sie die Entdecker nannten, die Alexinfixation, zuerst beobachtet und sie der Medizin nutzbar gemacht zu haben. Die genannten Autoren stellten fest, daß beim Zusammenbringen von inaktivem Pestimmunserum des Pferdes mit Pestbacillen in Gegenwart von einem besonders zugefügten Komplement (Meerschweinchen Serum) dieses gebunden werde, während die Bindung ausblieb, wenn statt des Pestimmunserums inaktives normales Pferdeserum verwendet wurde. Die Bindung des Komplements wurde dadurch sichtbar gemacht, daß dieser Mischung nach Verlauf von 5 Stunden ein inaktiviertes hämolytisches System zugesetzt wurde. War das Komplement durch den vorhergehenden Prozeß gebunden, so mußte die Hämolyse in dem inaktivierten hämolytischen System ausbleiben, weil das zur Lysis notwendige Komplement fehlte. Gengou²⁾ und Moreschi³⁾ übertrugen später diese

1) Bordet et Gengou, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 15. 1901. p. 289.

2) Gengou, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 734.

3) Moreschi, Berlin. klin. Wochenschr. 1905. p. 1181.

Komplementbindungsmethode auch auf den Nachweis von Eiweißkörpern. Hiervon machten Neisser und Sachs¹⁾ zuerst die praktische Anwendung, indem sie an Stelle der von Uhlenhuth, Wassermann und Schütze eingeführten Präzipitationsmethode die Komplementbindung zum Nachweis von Eiweißkörpern benutzten. Wassermann und Bruck²⁾ stellten weiter fest, daß die Komplementbindung nicht nur beim Zusammenbringen mit Vollbakterien, sondern auch mit Bakterienextrakten erfolgte, und sie verwendeten daher als Erste an Stelle der Bakterien Bakterienextrakte. Diese Versuchsanordnung war deswegen von besonderer Bedeutung, weil sie ermöglichte, gelöste Bakteriensubstanzen, wie z. B. das Tuberkulin³⁾ und Antituberkulin im tuberkulösen Organismus mit Hilfe der Komplementbindung nachzuweisen. Einen weiteren sehr wichtigen Fortschritt brachte die Wassermann-Brucksche Methode dadurch, daß man sie nun für diejenigen Infektionskrankheiten verwenden konnte, deren Erreger nicht bekannt bzw. nicht züchtbar sind. So benutzte sie Wassermann für den Luesnachweis, indem er an Stelle der gelösten Bakterien Extrakte aus luetischen Organen herstellte. In einer Arbeit, die er in Gemeinschaft mit Neisser und Bruck⁴⁾ ausführte, gelang in der Tat der Nachweis der Syphilis auf dem eben beschriebenen Wege. Das Serum eines Luetikers vermochte beim Zusammenbringen mit luetischem Organextrakt unter Anwesenheit von Komplement dieses zu binden. Die an einem großen Material ausgeführten Untersuchungen ergaben auch bei der Syphilis, ähnlich wie bei anderen Krankheiten, die Spezifität dieser Komplementbindung.

Man war demnach durch die Arbeiten der genannten Forscher im Laufe der Zeit dahin gekommen, in der Komplementbindung eine ausgezeichnete Methode zum Nachweis von Krankheiten zu sehen. Ueber die Ursache der Komplementbindung gehen die Ansichten noch weit auseinander. Die einen glauben, daß bei der eintretenden Agglutination das Komplement gebunden wird, andere wieder, daß bei dem Zusammenbringen eines Immunserums mit den betreffenden Bakterien die Präzipitation das Komplement mit niederreißt. Beide Anschauungen halten der Kritik nicht stand, so haben beispielsweise Wassermann und Bruck⁵⁾ nachgewiesen, daß Immunsera ihre präzipitierende Eigenschaft verlieren können, ohne daß die Komplementbindung ausbleibt. Wir selbst haben beim Rotz Fälle beobachtet, wo wir keine Agglutination, wohl aber eine kräftige Komplementbindung beobachteten. Seligmann⁶⁾ glaubt neuerdings, in der Komplementbindung eine kolloide Ausflockungsreaktion zu sehen.

Nicht unwichtig für das Wesen der Komplementbindung dürften die weiteren Beobachtungen bei der Syphilis sein. Während ursprünglich geglaubt wurde, daß die Komplementbindung nur mit Extrakten aus luetischen Organen möglich sei, konnte man später feststellen, daß auch Extrakte von normalen Organen, sei es des Menschen, sei es der Tiere, beim Zusammenbringen mit dem Serum eines Syphilitikers Komplementbindung ergaben. Besonders eignen sich hierzu einmal die Leber [Marie

1) Neisser u. Sachs, Berlin. klin. Wochenschr. 1905. p. 1388.

2) Wassermann u. Bruck, Med. Klinik. 1905. No. 55.

3) Wassermann u. Bruck, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 12.

4) Wassermann, Neisser u. Bruck, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 19.

5) Wassermann u. Bruck, Med. Klinik. 1905. No. 55.

6) Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1908. p. 340.

und Levaditi¹⁾, Michaelis²⁾], ferner das Meerschweinchenherz. Zur Aufklärung dieser eigentümlichen Erscheinung dienten Beobachtungen, die gleichzeitig in drei verschiedenen Laboratorien gemacht wurden und zwar von Wassermann³⁾, Porges⁴⁾, Landsteiner - Müller-Pötzl⁵⁾ und Levaditi-Yamanouchi⁶⁾. Diese Autoren stellten fest, daß die wirksame, bisher als Antigen bezeichnete Substanz keine eiweißartige durch Alkohol fällbare, sondern eine lipoide, d. h. in Alkohol lösliche Substanz sei. Die Konsequenz dieser Entdeckungen war, daß man sich bemühte, künstliche Extrakte von derselben Wirksamkeit herzustellen, und es ist tatsächlich Wassermann-Porges im Lecithin, Levaditi-Yamanouchi in gallensauren Salzen, Fleischmann, Sachs und Altmann⁷⁾ im oleinsuren Natrium gelungen, Substanzen zu ermitteln, welche ähnlich wieluetische Organextrakte beim Zusammenbringen mit dem Serum eines Syphilitikers eine Komplementbindung verursachen. Es müssen also dieluetischen Sera eine bestimmte Beziehung zu den lipoiden Substanzen haben, welche Eigenschaft Wassermann und Plauth als Lipophilieluetischer Sera bezeichnen.

Wenn uns die vorstehenden Untersuchungen auch mit einer Reihe sehr merkwürdiger Eigenschaften derluetischen Sera bekannt gemacht haben, so haben sie uns leider bezüglich der Erklärung der Ursache der Komplementbindung bei der Syphilis nicht weiter geführt. Die ursprüngliche Annahme, daß es sich bei der Komplementbindung um einen spezifischen Immunitätsvorgang, um eine Reaktion handelt, die unter Einwirkung von Antigen und Antikörpern zustande kommt, mußte fallen, nachdem man mit Substanzen, die nichts mit der Lues zu tun hatten, dieselbe Reaktion auszulösen vermocht hatte. Wassermann, der Entdecker der Serodiagnostik für Lues, ist gemeinsam mit Citron⁸⁾ der Ansicht, „daß jede Aenderung in dem physikalischen Zustand eines Moleküls durch den Eintritt einer anderen Substanz in dieses die Ursache der Komplementbindung ist“.

Diese Unklarheit bezüglich des Wesens der Komplementbindung hat mit der praktischen Bedeutung der Luesreaktion nichts zu tun, denn dieselbe wird zweifellos eine Bedeutung in der Serodiagnostik der Syphilis spielen. Wassermann⁹⁾ und seine Schüler haben unter strenger Beachtung der von Wassermann und Bruck angegebenen Methode festgestellt, daß bei Nichtluetikern die Reaktion stets negativ ausfällt, bei Luetikern in 85 Proz. der Fälle der Nachweis der Syphilis mit Hilfe der Komplementbindung gelingt. Neuerdings sind indessen eine größere Anzahl von Fällen von positiven Resultaten mit nichtluetischen Seris beobachtet worden, die imstande sind, den Wert der Wassermannschen Reaktion bis zu einem gewissen Grade zu erschüttern. So glaubt Seligmann¹⁰⁾ auf Grund eines größeren Untersuchungsmaterials zu der Annahme berechtigt zu sein, daß wir „zurzeit

1) Marie et Levaditi, *Annal. de l'Inst. Pasteur*. T. XXI. 1907. p. 138.

2) Michaelis, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1907. p. 1103.

3) Wassermann, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1907. p. 1600.

4) Porges, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1907. p. 1655.

5) Landsteiner-Müller-Pötzl, *Wien. klin. Wochenschr.* 1907. 1565.

6) Levaditi et Yamanouchi, *Compt. rend. Soc. de Biol.* 1907. No. 38.

7) Sachs u. Altmann, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1908. No. 10.

8) Wassermann u. Citron, *Zeitschr. f. experim. Patholog. u. Therapie.* 1907. p. 314.

9) Wassermann, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1907. p. 1600. 1908. p. 562.

10) Seligmann, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* Bd. 1. 1908. p. 340.

keinen Extrakt besitzen, der nicht zu irgendeiner Zeit in irgendeiner Konzentration mit irgendeinem nichtluetischen Serum positiv reagiert hätte“. Immerhin sind diese Fälle zu den Ausnahmen zu rechnen, unter Beachtung der Wassermannschen Technik kann man mit Schatilloff und Isabolinsky¹⁾ zugeben, daß die Serodiagnose der Syphilis mit Hilfe der Komplementbindung eine charakteristische Reaktion darstellt.

Zur Serodiagnose bakterieller Krankheiten hat die Komplementbindung bisher im allgemeinen nur eine geringe praktische Bedeutung gewonnen, wenn sie auch bei den meisten Bakterien schon angewandt worden ist. So haben bereits Bordet und Gengou²⁾ zuerst bei Pest, Rotlauf, Typhus und Cholera, später Händel³⁾ bei Cholera, Dedjulin⁴⁾ bei Schweinepest, die Komplementbindung verwendet. Leuchs⁵⁾ hat unter Benutzung von Typhusbacillenextrakten im Gegensatz zu Moreschi⁶⁾, der nach der Vorschrift von Bordet und Gengou Vollbakterien verwendete, gute Resultate erzielt. Nach Leuchs arbeitet die Wassermannsche Methode „absolut zuverlässig, spezifisch und vielleicht empfindlicher, als die bisher für die gleichen Zwecke gebräuchlichen Methoden“. Endlich bemerken wir noch, daß Friedberger⁷⁾ Lyssaserum vom Pferd und Extrakte von Lyssagehirn mit negativem Erfolge benutzt hat.

In der Veterinärmedizin hat die Komplementbindung in neuerer Zeit eine große Bedeutung gewonnen durch die verdienstvolle Arbeit von Schütz und Schubert⁸⁾ über die Serodiagnose des Rotzes mit Hilfe der Komplementbindung. Es ist diesen beiden Autoren gelungen, unter Beachtung wichtiger Modifikationen der Bordet-Gengouschen Methodik, auf die wir später noch zu sprechen kommen, in der Komplementbindung eine spezifische Reaktion zu ermitteln, welche uns befähigt, festzustellen, ob Sera von rotzigen oder von rotzfreien Pferden stammen. Die Untersuchungen haben ergeben, daß auf Zusatz von 0,1 Serum rotziger Pferde stets eine Komplementbindung eintritt, welche ausbleibt, sobald das Serum von rotzfreien Pferden stammt.

Seit etwa Jahresfrist ist die Tierhygienische Abteilung zu Bromberg beauftragt, nach der Methode von Schütz und Schubert die Sera aller rotzansteckungsverdächtigen Pferde der östlichen Provinzen Preußens mit Hilfe der Komplementbindung unter gleichzeitiger Anwendung der Agglutination zu untersuchen. Es liegen bisher Prüfungen von etwa 618 Seris vor.

A. Beschreibung der Komplementbindungsmethode.

Bevor wir unsere Versuchsergebnisse anführen, wird es notwendig sein, ganz kurz die Methodik, die wir unter strenger Beachtung der Schütz-Schubertschen Vorschrift verwendet haben, anzuführen. Die zu untersuchenden Sera rotzansteckungsverdächtiger Pferde werden der Abteilung von den Kreistierärzten zugesandt, welche den Pferden das Blut in einer Menge von etwa 20 ccm kurz vorher entnommen haben.

1) Schatilloff u. Isabolinsky, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1908. p. 316.

2) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 15. 1901. p. 289.

3) Händel, Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 2030.

4) Dedjulin, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 3. 1908. p. 313.

5) Leuchs, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 68 u. 107.

6) Moreschi, Berlin. klin. Wochenschr. 1906. p. 1243.

7) Friedberger, Wien. klin. Wochenschr. 1907. p. 879.

8) Schütz u. Schubert, Arch. f. wissenschaft. u. praktische Tierheilk. Bd. 35. 1909. p. 44.

Das Serum wird ohne Zusatz von Karbolsäure untersucht, während der übrigbleibende Teil unter Karbolzusatz zwecks eventuell späterer Nachprüfung aufbewahrt wird. Man erhitzt das Serum zunächst $\frac{1}{2}$ Stunde lang im Wasserbade auf 56° , um es zu inaktivieren und auch etwaige sonst störende und die Hämolyse hemmenden Stoffe in demselben zu beseitigen. Als Komplement findet Meerschweinchenserum Verwendung, welches an demselben Tage entnommen ist und sorgfältig vor Licht und Wärme geschützt wird. Der Ambozeptor wird in der Weise austitriert, daß man prüft, in welcher Menge er unter Zusatz von 0,05 Komplement noch eben imstande ist, die Lysis zu bewirken. In ähnlicher Weise wird das Komplement geprüft, indem man dabei stets die doppelte Menge des Ambozeptors verwendet und prüft, welche Menge des Komplements notwendig ist, die Lysis zu bewerkstelligen. Für die Versuche sind folgende Kontrollen erforderlich:

- 1) Blutkörperchen + Ambozeptor + Komplement, zur Kontrolle des hämolytischen Systems.
- 2) „ + Ambozeptor, zur Kontrolle, ob der Ambozeptor allein nicht löst.
- 3) „ + Komplement, zur Kontrolle, ob das Komplement allein nicht löst.
- 4) „ + Kochsalzlösung, zur Kontrolle, ob die Kochsalzlösung allein nicht löst.
- 5) „ + Extrakt + Ambozeptor + Komplement, zur Kontrolle, ob einfache Extraktmenge die Hämolyse nicht hemmt.
- 6) „ + doppelte Extraktmenge + Ambozeptor + Komplement, zur Kontrolle, ob doppelte Extraktmenge die Hämolyse nicht hemmt.
- 7) „ + Pferdeserum + Ambozeptor + Komplement, zur Kontrolle, ob das Pferdeserum allein nicht hemmt.
- 8) „ + austitriertes Rotzserum + Extrakt + Ambozeptor + Komplement, zur Kontrolle, ob der Extrakt mit Rotzserum die Hämolyse hemmen.

Bei der Veränderlichkeit der zur Komplementbindung notwendigen Substanzen ist die Kontrolle No. 8 von größter Bedeutung. Es genügt nicht, daß ein Rotzserum in einer Menge von beispielsweise 0,2 ccm verwendet wird, sondern es muß die geringste Menge zur Anwendung gelangen, die gerade noch bei einer einwandfreien Reaktion eine komplette Bindung bewirkt. Am geeignetsten sind Sera von mittlerem Bindungswert, etwa 0,05, weil sie bei ihrem verhältnismäßig geringem Gehalt an Reaktionskörpern Fehler in der Methode viel eher anzeigen, als Sera, die solche in großer Menge enthalten. Nur wenn diese Kontrollen einwandfrei ausgefallen sind, ist das Untersuchungsergebnis als fehlerlos zu bezeichnen.

Als Antigen dient ein Rotzbacillenextrakt, der in konzentrierter Form im Eisschrank vorrätig gehalten wird. Man stellt ihn in der Weise her, daß zweitägige frische Glyzerinagar-Rotzkulturen nach zweistündiger Erhitzung auf 60° mit 0,5-proz. Karbolkochsalzlösung abgeschwemmt werden, wobei auf ein gut bewachsenes Kulturröhrchen 10 ccm Karbolkochsalzlösung kommen. Die so erhaltene milchige Flüssigkeit wird in sterile Kölbchen gefüllt und 4 Tage lang im Schüttelapparat geschüttelt. Darauf wird die Flüssigkeit 1—2 Stunden lang in der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert und der obere klare Teil, der den Extrakt darstellt, vorsichtig abgegossen. Von diesem Extrakt wird zu jedem Versuch eine 1-proz. Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung frisch hergestellt. Je 0,2 ccm der zu untersuchenden inaktivierten Sera werden in 2 Röhrchen überpipettiert und je 1 ccm der

austitrierten Komplementmenge zugefügt. Dem ersten Röhrchen wird noch 1 ccm Extrakt zugesetzt, während das zweite Röhrchen frei von Extrakt bleibt und als Kontrolle dafür dient, daß das Pferdeserum an sich keinen die Hämolyse hemmenden Einfluß ausübt. Endlich werden noch 2 Röhrchen mit 1 bzw. 2 ccm Extrakt und 1 ccm Komplement gefüllt, um zu zeigen, daß der Extrakt allein das Komplement nicht bindet.

Nach 1-stündigem Stehenlassen im Thermostaten bei 37° wird jedem Röhrchen das inaktivierte hämolytische System hinzugesetzt. Die Röhrchen kommen weitere 2 Stunden in den Thermostaten, werden dann bei Zimmertemperatur stehen gelassen, worauf das Resultat in der Regel am nächsten Morgen abgelesen wird. Ist eine Bindung eingetreten, so wird dasselbe Serum in Mengen von 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 noch einmal angesetzt, um festzustellen, bis zu welcher Menge eine komplette Bindung eintritt. Die Zahl, welche angibt, auf Zusatz welcher geringsten Menge Serum eben noch eine komplette Bindung nachzuweisen ist, haben wir als Bindungswert bezeichnet und im folgenden in diesem Sinne verwendet.

Die Ergebnisse der Blutuntersuchung von 618 rotzansteckungsverdächtigen bzw. rotzigen Pferden, deren Sera in der Zeit vom 1. November 1908 bis zum 1. Juli 1909 zugesandt wurden, sind in folgender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 1.
Ergebnis der Blutuntersuchung von 618 Pferden.

Agglutina- tionswert	Zahl der Pferde		Bindungswert											
			keine Bindung		0,2		0,1		0,05		0,02		0,01	
	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig	rotzfrei	rotzig
300	199	.	198	.	.	.	1
400	180	3	179	1	1	1	.	1	.	.
500	80	5	79	1	1	1	.	2	.	1
600	63	6	61	1	.	.	6	1	.
800	27	11	25	.	.	1	.	2	.	2	1	4	1	2
1000	.	13	.	1	.	1	.	1	.	2	.	6	.	2
1500	.	11	3	.	6	.	2
2000	.	20	.	2	4	.	5	.	9
	549	69	542	5	.	2	1	3	3	13	1	30	2	16

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Sera von 549 rotzfreien Pferden in 542 Fällen keinen Bindungswert, welcher größer als 0,2 ist, also wie wir uns auszudrücken pflegen, keine Komplementbindung gezeigt haben. Von den restierenden 7 gesunden Pferden hatten

1 einen Bindungswert von 0,1
3 " " " 0,05
1 " " " 0,02
2 " " " 0,01

Bei 69 rotzigen Pferden ergab sich:

5mal ein Bindungswert über 0,2
2 " " " von 0,2
3 " " " 0,1
13 " " " 0,05
30 " " " 0,02
16 " " " 0,01

Wenn wir Pferde mit einem Bindungswert des Serums von 0,1 und darunter als rotzig ansehen, so würden demnach von 549 rotzfreien Pferden $7 = 1,27$ Proz. durch die Komplementbindung als rotzig und von 69 rotzigen Pferden $7 = 10,1$ Proz. als rotzfrei bezeichnet worden sein. Die Tabelle lehrt ferner, daß die Sera zweier Pferde zwar keine Komplementbindung ergaben, aber in einer Verdünnung von 1:2000 agglutinierten. Diese Sera müssen auf Grund der Untersuchungen von Schütz und Miessner¹⁾ als zu rotzigen Pferden gehörig bezeichnet werden, ebenso wie die Sera der beiden Pferde mit den Agglutinationswerten 1000 und den Bindungswerten 0,2 bzw. größer als 0,2. Es ist hierbei zu beachten, daß diese Pferde sicher aus später noch anzuführenden Gründen bei einer zweiten nach 3 Wochen zu wiederholenden Blutuntersuchung mit Hilfe der Komplementbindung als rotzkrank ermittelt worden wären. Unter Berücksichtigung der Komplementbindung und Agglutination wurden demnach von 69 rotzigen Pferden nur 7 bis $4,3 = 4,3$ Proz. nicht als rotzig erkannt.

Auch diese 3 Fehlresultate stammen aus rotzigen Beständen, in welchen alle Pferde wegen der großen Ausdehnung des Rotzes sofort nach dem Bekanntwerden des Ergebnisses der ersten Blutuntersuchung aus veterinärpolizeilichen Gründen getötet worden waren. Bei der sonst üblichen zweiten Blutuntersuchung wären wahrscheinlich auch diese Pferde der Erkennung nicht entgangen.

Aus den angeführten Beobachtungen ergibt sich, welche Sicherheit die Serodiagnose des Rotzes durch die Kombination von Komplementbindung und Agglutination erhalten hat.

Von 618 rotzansteckungsverdächtigen Pferden, unter denen sich 69 rotzige befanden, sind bei sachgemäßer Beurteilung des Ergebnisses beider Methoden 7 gesunde Pferde $= 1,1$ Proz. als rotzig bezeichnet worden und 3 Pferde, deren Serum nicht reagierte, erwiesen sich als rotzig. Aber diese 3 Pferde sind nicht von uns als rotzfrei bezeichnet, sondern bereits vor Abschluß der Untersuchungen getötet worden.

Es ist daher bei unseren bisherigen Untersuchungen noch kein Fall vorgekommen, in welchem ein von uns als rotzfrei bezeichnetes Pferd sich später als rotzig erwies.

Die positive Reaktion des Serums gesunder Pferde, sobald sie sich nur auf einen geringen Prozentsatz beschränkt, hat in der Veterinärmedizin nicht die Bedeutung, welche einer positiven Luesreaktion bei gesunden Menschen zukommen würde; denn der unbegründete Verdacht auf Lues bei einem in der Tat gesunden Menschen kann die unheilvollsten Folgen für das Familienleben nach sich ziehen, während die Tötung eines durch die Komplementbindung als rotzverdächtig bezeichneten, aber in der Tat gesunden Pferdes nur von geringer wirtschaftlicher Bedeutung ist. Es liegen also beim Mensch und Tier entgegengesetzte Verhältnisse vor, welche auch die Beurteilung ganz verschieden gestalten. Bei den Menschen kommt es darauf an, die Luetiker zu ermitteln, ohne gesunde Individuen zu verdächtigen, bei den Tieren ist die Hauptsache, alle kranken Tiere herauszufinden, selbst auf die Gefahr hin, gesunde Tiere als rotzig zu bezeichnen.

Die Organisation der Blutuntersuchung ist durch Erlaß des Landwirtschaftsministers folgende:

Die beamteten Tierärzte der westlich von Berlin liegenden Provinzen Preußens sind verpflichtet, dem Pathologischen Institut

1) Schütz u. Miessner, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1905.

der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin, und diejenigen der östlichen Provinzen Preußens der Tierhygienischen Abteilung des Kaiser - Wilhelms - Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg die Anzahl der von ihnen ermittelten rotzansteckungsverdächtigen Pferde und Bestände mitzuteilen. Sie erhalten dann von den in Frage kommenden Instituten ein Formular nach untenstehendem Muster, und gleichzeitig so viel mit einem Korken verschlossene und mit einem Etikett versehene, etwa 20 ccm fassende Zentrifugenröhrchen zugesandt, als zur Untersuchung der Pferde in Betracht kommen. Gleichzeitig wird noch eine entsprechende Anzahl von Hohladeln zur Blutentnahme geliefert. Die mit Blut der betreffenden Pferde gefüllten Röhrchen ebenso wie die entsprechend ausgefüllten Formulare werden den Instituten wieder zurückgesandt und daselbst das Serum untersucht. Sobald die Untersuchung abgeschlossen ist, wird den beamteten Tierärzten durch Vermittelung des Ministeriums das Ergebnis der Untersuchung mitgeteilt und die als rotzkrank erkannten Pferde werden getötet. Sind durch die Blutuntersuchung rotzige Pferde ermittelt worden, so werden nach 3 Wochen sämtliche Pferde desselben Bestandes noch einmal untersucht, da die Möglichkeit besteht, daß das nach der ersten Blutprüfung ermittelte rotzige Pferd Stallgefährten infiziert hat.

Anweisung für die Blutentnahme und für die Benutzung der untenstehenden Tabelle.

1. Zur Blutentnahme wird eine Hautstelle an der Drosselvene desinfiziert und in die letztere eine Aderlaßnadel gestochen. Den Blutstrahl, der aus der Nadel abfließt, leitet man in ein sterilisiertes Gläschen, das dreiviertel mit Blut gefüllt wird. Jedes gefüllte Gläschen ist sofort mit einem Korken zu verschließen. Die Gläschen sind nur mit den betreffenden Nummern bzw. mit den Namen der Pferde, denen das Blut entnommen worden ist, zu bezeichnen und gut verpackt umgehend den Untersuchungsstellen zu übersenden. Wird Blut von Pferden mehrerer Besitzer zu gleicher Zeit entnommen, so muß auch auf jedem Gläschen der Name des Besitzers vermerkt werden.

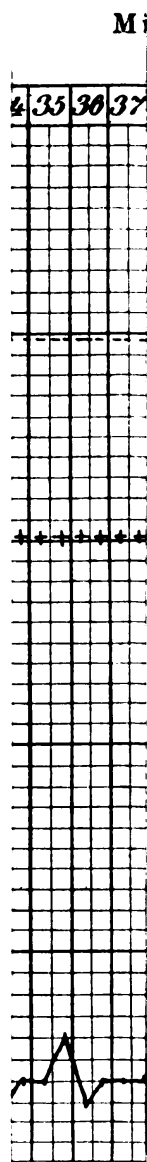
Um zu vermeiden, daß das Blut eines Pferdes durch das Blut eines anderen Pferdes verunreinigt wird, sind nach jedem Aderlaß die Hände gründlich abzuspülen; ferner ist für jedes Pferd eine neue Aderlaßnadel, oder falls die Zahl derselben nicht ausreicht, eine der vorher gebrauchten, aber in Wasser von allen Blutspuren gereinigten Nadeln zu benutzen.

2. Der Name und der Wohnort des Besitzers, die Kennzeichen, Nummern oder Namen der Pferde — auch der bereits gestorbenen oder getöteten — sind in der Anlage B genau aufzunehmen. Etwaige rotzverdächtige oder sonstige Krankheitserscheinungen sind bei jedem Pferde anzugeben, ebenso das Obduktionsergebnis der bereits gestorbenen oder getöteten Pferde. Die Pferde sind der Reihe nach so aufzuführen, wie sie im Stalle gestanden haben. Auch sind die verschiedenen Ställe in der Liste genau kenntlich zu machen.

3. Der Zeitpunkt, an dem die Pferde der Ansteckung ausgesetzt waren, ist möglichst genau zu ermitteln. Auch ist über die Art und Weise des Auftretens der Rotzkrankheit in dem Bestande eingehend zu berichten.

4) Aderlaßnadeln und sterilisierte, mit Korken verschlossene Gläschen liefern die Untersuchungsstellen; die Nadeln sind jedesmal mit den Blutröhrchen wieder zurückzusenden.

24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000
1001
1002
1003
1004
1005
1006
1007
1008
1009
1010
1011
1012
1013
1014
1015
1016
1017
1018
1019
1020
1021
1022
1023
1024
1025
1026
1027
1028
1029
1030
1031
1032
1033
1034
1035
1036
1037
1038
1039
1040
1041
1042
1043
1044
1045
1046
1047
1048
1049
1050
1051
1052
1053
1054
1055
1056
1057
1058
1059
1060
1061
1062
1063
1064
1065
1066
1067
1068
1069
1070
1071
1072
1073
1074
1075
1076
1077
1078
1079
1080
1081
1082
1083
1084
1085
1086
1087
1088
1089
1090
1091
1092
1093
1094
1095
1096
1097
1098
1099
1100
1101
1102
1103
1104
1105
1106
1107
1108
1109
1110
1111
1112
1113
1114
1115
1116
1117
1118
1119
1120
1121
1122
1123
1124
1125
1126
1127
1128
1129
1130
1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145
1146
1147
1148
1149
1150
1151
1152
1153
1154
1155
1156
1157
1158
1159
1160
1161
1162
1163
1164
1165
1166
1167
1168
1169
1170
1171
1172
1173
1174
1175
1176
1177
1178
1179
1180
1181
1182
1183
1184
1185
1186
1187
1188
1189
1190
1191
1192
1193
1194
1195
1196
1197
1198
1199
1200
1201
1202
1203
1204
1205
1206
1207
1208
1209
1210
1211
1212
1213
1214
1215
1216
1217
1218
1219
1220
1221
1222
1223
1224
1225
1226
1227
1228
1229
1230
1231
1232
1233
1234
1235
1236
1237
1238
1239
1240
1241
1242
1243
1244
1245
1246
1247
1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263
1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273
1274
1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283
1284
1285
1286
1287
1288
1289
1290
1291
1292
1293
1294
1295
1296
1297
1298
1299
1300
1301
1302
1303
1304
1305
1306
1307
1308
1309
1310
1311
1312
1313
1314
1315
1316
1317
1318
1319
1320
1321
1322
1323
1324
1325
1326
1327
1328
1329
1330
1331
1332
1333
1334
1335
1336
1337
1338
1339
1340
1341
1342
1343
1344
1345
1346
1347
1348
1349
1350
1351
1352
1353
1354
1355
1356
1357
1358
1359
1360
1361
1362
1363
1364
1365
1366
1367
1368
1369
1370
1371
1372
1373
1374
1375
1376
1377
1378
1379
1380
1381
1382
1383
1384
1385
1386
1387
1388
1389
1390
1391
1392
1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406
1407
1408
1409
1410
1411
1412
1413
1414
1415
1416
1417
1418
1419
1420
1421
1422
1423
1424
1425
1426
1427
1428
1429
1430
1431
1432
1433
1434
1435
1436
1437
1438
1439
1440
1441
1442
1443
1444
1445
1446
1447
1448
1449
1450
1451
1452
1453
1454
1455
1456
1457
1458
1459
1460
1461
1462
1463
1464
1465
1466
1467
1468
1469
1470
1471
1472
1473
1474
1475
1476
1477
1478
1479
1480
1481
1482
1483
1484
1485
1486
1487
1488
1489
1490
1491
1492
1493
1494
1495
1496
1497
1498
1499
1500
1501
1502
1503
1504
1505
1506
1507
1508
1509
1510
1511
1512
1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525
1526
1527
1528
1529
1530
1531
1532
1533
1534
1535
1536
1537
1538
1539
1540
1541
1542
1543
1544
1545
1546
1547
1548
1549
1550
1551
1552
1553
1554
1555
1556
1557
1558
1559
1560
1561
1562
1563
1564
1565
1566
1567
1568
1569
1570
1571
1572
1573
1574
1575
1576
1577
1578
1579
1580
1581
1582
1583
1584
1585
1586
1587
1588
1589
1590
1591
1592
1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608
1609
1610
1611
1612
1613
1614
1615
1616
1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636
1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669
1670
1671
1672
1673
1674
1675
1676
1677
1678
1679
1680
1681
1682
1683
1684
1685
1686
1687
1688
1689
1690
1691
1692
1693
1694
1695
1696
1697
1698
1699
1700
1701
1702
1703
1704
1705
1706
1707
1708
1709
1710
1711
1712
1713
1714
1715
1716
1717
1718
1719
1720
1721
1722
1723
1724
1725
1726
1727
1728
1729
1730
1731
1732
1733
1734
1735
1736
1737
1738
1739
1740
1741
1742
1743
1744
1745
1746
1747
1748
1749
1750
1751
1752
1753
1754
1755
1756
1757
1758
1759
1760
1761
1762
1763
1764
1765
1766
1767
1768
1769
1770
1771
1772
1773
1774
1775
1776
1777
1778
1779
1780
1781
1782
1783
1784
1785
1786
1787
1788
1789
1790
1791
1792
1793
1794
1795
1796
1797
1798
1799
1800
1801
1802
1803
1804
1805
1806
1807
1808
1809
1810
1811
1812
1813
1814
1815
1816
1817
1818
1819
1820
1821
1822
1823
1824
1825
1826
1827
1828
1829
1830
1831
1832
1833
1834
1835
1836
1837
1838
1839
1840
1841
1842
1843
1844
1845
1846
1847
1848
1849
1850
1851
1852
1853
1854
1855
1856
1857
1858
1859
1860
1861
1862
1863
1864
1865
1866
1867
1868
1869
1870
1871
1872
1873
1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025
2026
2027
2028
2029
2030
2031
2032
2033
2034
2035
2036
2037
2038
2039
2040
2041
2042
2043
2044
2045
2046
2047
2048
2049
2050
2051
2052
2053
2054
2055
2056
2057
2058
2059
2060
2061
2062
2063
2064
2065
2066
2067
2068
2069
2070
2071
2072
2073
2074
2075
2076
2077
2078
2079
2080
2081
2082
2083
2084
2085
2086
2087
2088
2089
2090
2091
2092
2093
2094
2095
2096
2097
2098
2099
2100
2101
2102
2103
2104
2105
2106
2107
2108
2109
2110
2111
2112
2113
2114
2115
2116
2117
2118
2119
2120
2121
2122
2123
2124
2125
2126
2127
2128
2129
2130
2131
2132
2133
2134
2135
2136
2137
2138
2139
2140
2141
2142
2143
2144
2145
2146
2147
2148
2149
2150
2151
2152
2153
2154
2155
2156
2157
2158
2159
2160
2161
2162
2163
2164
2165
2166
2167
2168
2169
2170
2171
2172
2173
2174
2175
2176
2177
2178
2179
2180
2181
2182
2183
2184
2185
2186
2187
2188
2189
2190
2191
2192
2193
2194
2195
2196
2197
2198
2199
2200
2201
2202
2203
2204
2205
2206
2207
2208
2209
2210
2211
2212
2213
2214
2215
2216
2217
2218
2219
2220
2221
2222
2223
2224
2225
2226
2227
2228
2229
2230
2231
2232
2233
2234
2235
2236
2237
2238
2239
2240
2241
2



5. Die Kreistierärzte haben vor jeder Blutentnahme dem Institute die Zahl der ansteckungsverdächtigen Pferde und Bestände mitzuteilen, damit ihnen rechtzeitig die zur Entnahme der Blutproben notwendigen Gläser, Instrumente und Formulare übersandt werden können.

6) Bei jeder Blutentnahme sind etwaige Veränderungen im Befinden der Tiere sowie kurze Obduktionsbefunde über etwa getötete oder gestorbene Pferde einzutragen.

7) Der Tag der Blutentnahme ist jedesmal am Kopf der entsprechenden Spalten zu vermerken.

8) Nach jeder Blutentnahme ist die Anlage B sofort unmittelbar dem Institute zu übersenden.

1.	2.	3.	4.
Fort- laufende No. der Pferde	Name und Wohnort des Besitzers	Signalement der Pferde: Farbe, Geschlecht, Alter und Abzeichen	Bemerkungen: Krankhafte Erscheinungen; Tag der Obduktion; Ergebnis der Obduktion usw.

5.	6.	7.	8.
I.	II.	III.	
Blutentnahme am:	Blutentnahme am:	Blutentnahme am:	
.....	
Aggluti- nations- wert	Aggluti- nations- wert	Aggluti- nations- wert	Bemerkungen.
Bindungs- wert	Bindungs- wert	Bindungs- wert	

Zur Feststellung der Veränderung des Bindungswertes rotziger Sera und seiner Beziehungen zum Agglutinationswert haben wir ein Pferd künstlich durch subkutane Injektion von Rotzbacillen infiziert und das täglich entnommene Serum untersucht. Die Ergebnisse sind aus Kurve 1 ersichtlich. Der Bindungswert war am Tage der Infektion größer als 1,5, und der Agglutinationswert betrug 300. Bindungs- und Agglutinationswert stiegen am 6. Tage nach der Infektion auf 0,1 bzw. 600, am 7. Tage auf 0,05 bzw. 1000, am 8. Tage auf 0,02 bzw. 2000; am 9. Tage erreichen der Bindungswert mit 0,001 und der Agglutinationswert mit 4000 ihren Höhepunkt. Die Veränderungen in der folgenden Zeit sind den Kurven leicht zu entnehmen. Nach 4 Monaten befinden sich Bindungswert auf 0,05 und Agglutinationswert auf 1500. Die weiteren Veränderungen lassen sich wegen der Kürze der Beobachtungszeit nicht übersehen. Der Agglutinationswert nimmt nach den Untersuchungen von Schütz und Miessner allmählich ab, und erreicht etwa innerhalb eines Jahres seinen früheren Wert (300). Der Bindungswert scheint aber in der Regel länger hoch zu bleiben, da wir bei der Untersuchung eingesandter rotziger Sera (s. Tabelle 1) Fälle beobachtet haben, in denen der Agglutinationswert nur 4—600, der Bindungswert dagegen 0,05—0,01 betrug. Unter Berücksichtigung der von uns in solchen Fällen stets genau kontrollierten Sektionsbefunde konnten wir feststellen, daß entsprechend dem niedrigen Agglutinationswerte stets chronische Fälle von Rotz vorlagen.

Bei unserem Versuchspferd sind Bindungs- und Agglutinationswert etwa gleichzeitig angestiegen; wir haben, wie Tabelle 1 lehrt, 2 Fälle

kennen gelernt, in denen rotzige Sera bei 2000 agglutinierten, aber keinen Bindungswert zeigten. Nach Lage des Falles und unter Berücksichtigung des Obduktionsbefundes handelte es sich um frisch infizierte Pferde. Es ist daher die Annahme berechtigt, daß unter Umständen der Bindungswert langsamer steigt als der Agglutinationswert. Diese Erfahrung hat besonders dazu Anlaß gegeben, bei der Serodiagnostik des Rotzes der Agglutination nicht zu entbehren.

Endlich sind, wie aus der Tabelle 1 ersichtlich, auch vereinzelt Fälle konstatiert worden, in denen bei gesunden Pferden eine kräftige Komplementbildung vorlag. Es fehlt uns für diese Fälle eine Erklärung, wir kennen aber ähnliche Beobachtungen bei der Agglutination, bei welcher zuweilen, wenn auch selten, gesunde Pferde Agglutinationswerte von 1000 und selbst 1500 haben. Auch dort wissen wir nicht, ob es die Normalagglutinine sind, welche den hohen Agglutinationswert veranlaßt haben oder, wie manche Autoren annehmen, ob nicht diese Tiere doch Gelegenheit gehabt haben zu einer Infektion und die Reaktionen darauf zurückzuführen sind, eventuell ob die Tiere nicht mit Mallein behandelt wurden. Auf diesen Fall kommen wir im Laufe der Arbeit noch zurück.

Das Antigen.

Wir haben aus den Untersuchungen bei der Syphilis kennen gelernt, daß das Antigen außerordentlich verschieden sein kann und, wie schon in der Einleitung erwähnt, haben diese verschiedenartigen Antigene das Wesen der Komplementbindung bei der Lues, statt es zu lichten, immer mehr und mehr verschleiert. Es soll deshalb im folgenden unsere Aufgabe sein, zu prüfen, ob beim Rotz ähnliche Verhältnisse vorliegen, und ob es auch bei dieser Krankheit gelingt, beispielsweise mit Normalorganextrakten, sei es alkoholischer, sei es wässriger Art, Komplementbindung zu erzeugen. Bevor wir an die Lösung dieser Frage herantreten, haben wir das bisher verwendete Antigen verschiedentlich modifiziert, um zu sehen, ob auch hierin gewisse Unterschiede festzustellen sind.

1. Bacillenextrakt.

Wir verwendeten für die bisherigen Versuche in Anlehnung an die Vorschriften von Schütz und Schubert einen Extrakt, bei welchem eine Kultur mit 1000 ccm Kochsalzwasser, also 1 pro mille verdünnt wurde. Wir verdünnten in weiteren Versuchen eine Kultur nur mit 500 ccm, dann mit 250, 100, 50, 25 und 10 ccm Wasser, und konnten feststellen, daß Verdünnungen von 1:500 und 1:250 genau so arbeiten, wie solche von 1:1000. Die Extrakte dagegen, bei welchen die Kultur nur mit 100 Teilen und weniger Wasser verdünnt wurde, lassen sich für die Komplementbildung nicht mehr verwenden, da sie schon allein, ohne Zusatz von Rotzserum, die Hämolyse hemmen. Stärkere Verdünnungen des Extraktes wie 1:5000 und 1:10000 eignen sich gleichfalls nicht zur Komplementbindung, da sie mit rotzigen Seris eine unvollständige Hemmung hervorrufen.

Die Herstellung des Rotzextraktes wurde in der Weise modifiziert, daß die abgeschwemmte Bakterienemulsion statt im Schüttelapparat in der elektrischen Kugelmühle 3 Tage lang zerrieben, dann zentrifugiert und endlich in der üblichen Weise verarbeitet wurde. Ein wesentlicher Unterschied zwischen dem durch die Kugelmühle gewonnenen und dem mittels des Schüttelapparates hergestellten Extrakt konnten wir nicht feststellen. Wurden dagegen die geschüttelten resp. zerriebenen Bakte-

rienaufschwemmungen nicht zentrifugiert, sondern durch einen Tonfilter filtriert, so ergab sich bei dem Komplementbindungsversuche, daß die so gewonnenen Extrakte schwächer und dazu noch ungleichmäßig arbeiteten, so daß sich also diese Extrakte für die Methode nicht empfehlen lassen.

2. Bacillenaufschwemmung.

Bei einer weiteren Versuchsreihe verwendeten wir statt der Rotzbacillenextrakte eine Rotzbacillenaufschwemmung in verschiedener Konzentration, wie sie in ähnlicher Weise bei der Agglutination Verwendung findet. Hierbei stellte sich heraus, daß die Bacillenaufschwemmung genau so die Komplementbindung hervorrief wie der Extrakt, und daß auch hierbei Verdünnungen von 1:500 bis 1:1000 die besten Reaktionen ergaben. Innerhalb dieser Grenzen konnten wir niemals eine spontane Hemmung der Hämolyse bemerken, dagegen traten solche in stärkeren Konzentrationen auf und waren in der Regel etwas kräftiger als bei den entsprechenden Extraktmengen.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß entgegengesetzt der Anschauung Wassermanns und seiner Schule wenigstens beim Rotz ein wesentlicher Unterschied in der Verwendung von Vollbakterien und Bakterienextrakten nicht besteht. Es ist ferner interessant, festgestellt zu haben, daß die trübe, Bacillen enthaltende Bakterienaufschwemmung kein Hindernis für die Verwendung abgibt, während man bei der Syphilis peinlichst darauf bedacht ist, stets nur mit völlig klaren Flüssigkeiten zu arbeiten.

Die Haltbarkeit der Bacillenextrakte und Bacillenaufschwemmungen ist keineswegs eine unbegrenzte, und zwar gilt dies noch mehr für die Bacillenaufschwemmungen, als für die Bacillenextrakte. Immerhin konnten wir aber beobachten, daß während eines Zeitraumes von 3—4 Monaten eine wesentliche Aenderung nicht eintrat. Ebenso konnte Meyer¹⁾ feststellen, daß Organextrakte noch nach 4 Monaten in ihrer Wirksamkeit bei der Luesreaktion nichts eingebüßt hatten. Nach diesem Zeitraum ist jedoch eine gewisse Vorsicht in der Anwendung der Extrakte bzw. Bacillenaufschwemmungen geboten. Ähnliche Beobachtungen hat Seligmann²⁾ bei der Syphilis gemacht und festgestellt, daß die Wirksamkeit wässriger Organextrakte allmählich abnimmt.

In Uebereinstimmung mit Meyer (l. c.) konnten wir konstatieren, daß die Extrakte gegen Licht ziemlich empfindlich sind. Auch vertragen sie eine längere Aufbewahrung bei Zimmertemperatur nicht. Dies ist aber nicht darauf zurückzuführen, daß etwa bei diesen Temperaturen die bei der Komplementbindung tätigen Stoffe zerstört werden, sondern hat wahrscheinlich seine Ursache darin, daß sich die Flüssigkeiten bei solchen Temperaturen zersetzen. Die Siedehitze selbst vermag die Wirksamkeit frischer Extrakte bzw. Bacillenaufschwemmungen nicht zu beeinflussen; denn man kann ohne Bedenken derartige Flüssigkeiten Temperaturen von 100° aussetzen. Gegenüber der Kälte zeigen die Extrakte eine ähnliche Stabilität wie der Wärme gegenüber. Sie vertragen dauernd Temperaturen von —10 bis —15°; es schadet ihnen auch ein wiederholtes Gefrierenlassen und Wiederauftauen nichts.

1) Meyer, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 1637.

2) Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. p. 348.

3. Malleinum siccum Foth.

Endlich wurde als Antigen das Malleinum siccum Foth verwendet, wie es im Handel käuflich ist. Wir haben von diesem Mallein Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung von 1:10 bis 1:1000 in steigender Reihe hergestellt und an verschiedenen rotzigen und rotzfreien Seris geprüft. Hierbei konnte man beobachten, daß die Resultate sehr schwankende waren, indem einmal eine Bindung eintrat, im anderen Falle nicht, und auch die spontane Hemmung der Hämolyse durch das Mallein großen Schwankungen unterworfen war. Es hängt dies wahrscheinlich mit der Herstellung des Malleins zusammen, welche nicht immer gleichwertige Präparate liefert.

4. Rotzbacillenantiforminextrakte.

In jüngster Zeit haben Altmann und Schultz¹⁾ Antiformin zur Herstellung von Typhusbakterienextrakten verwendet. Das Antiformin stellt bekanntlich ein zuerst von Uhlenhuth²⁾ eingeführtes bakterienauflösendes Desinfektionsmittel dar, welches aus einer Mischung von Alkalihypochlorit und Alkalihydrat besteht. Zur Neutralisation des die Blutkörperchen schädigenden Alkalis und Chlors wird 5-proz. Schwefelsäure und 5-proz. Natriumsulfit benutzt.

In ähnlicher Weise schwemmten wir unsere Rotzbacillenkulturen mit 1-proz. Antiformin, das eine vollständige Lysis der Bakterien innerhalb 30 Minuten bei 40° bewirkte, ab und neutralisierten darauf. Dann wurde das Extrakt derart mit 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt, daß auf 1 Rotzkultur 500 ccm Flüssigkeit kamen.

Mit diesem Extrakt ausgeführte Komplementbindungsversuche ergaben gute Resultate, wir denken später auf diese Versuche zurückzukommen.

5. Organextrakte.

a) Wässerige Organextrakte.

Da das Serum von Luetikern ursprünglich nur mit Extrakten aus luetischen Organen eine Komplementbindung ergab, so glaubten Wassermann und seine Mitarbeiter, daß wir in der Komplementbindung bei der Syphilis eine biologisch spezifische Reaktion hätten. Im Anschluß an die Versuche mit luetischem Serum führten Wassermann und Plaut³⁾ Untersuchungen mit der Lumbalflüssigkeit von Paralytikern aus, um diese auf syphilitische Antistoffe zu prüfen. Sie fanden dabei, daß syphilitisches Virus bei Paralytikern nur selten angetroffen wird, dagegen die „Reaktionsprodukte auf luetische Substanzen, d. h. die luetischen Antistoffe in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle“ gefunden werden. Zu gleichen Resultaten kam Schütze⁴⁾, welcher die Cerebrospinalflüssigkeit von Tabetikern untersuchte. Wenn auch die genannten Autoren aus diesen Versuchen nicht den Schluß zogen, daß die Paralysis und Tabes direkt mit der Syphilis kausal zusammenhängen, so hatte doch diese Anschauung viel Bestechendes für sich. Durch weitere Untersuchungen von Marie und Levaditi⁵⁾ sowie von

1) Altmann und Schultz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909. p. 98.

2) Uhlenhuth u. Xylander, Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 1346.

3) Wassermann u. Plaut, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1769.

4) Schütze, Berlin. klin. Wochenschr. p. 126.

5) Marie et Levaditi, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 21. 1907.

Michaelis¹⁾ und Weil²⁾ erhielt die Spezifität der Syphilisreaktion eine wesentliche Einschränkung: denn die genannten Autoren konnten nachweisen, daß die Komplementbindung nicht bloß bei Verwendung von luetischen Extrakten, sondern auch bei Extrakten aus normalen Lebern und Milzen eintrat. Damit fielen alle Ueberlegungen, die an die Versuche von Wassermann und Plaut sowie Schütze bezüglich der Identität von Lues, Paralysis und Tabes gemacht wurden.

Durch die vorstehenden Versuche war die Syphilisreaktion ihrer Spezifität beraubt. Es dürfte nun von besonderem Interesse sein, zu untersuchen, wie sich der Komplementbindung gegenüber andere bakterielle Krankheiten verhalten, insbesondere, ob hier ähnliche Beobachtungen mit normalen und mit pathologischen Extrakten gemacht werden können. Derartige Prüfungen liegen unseres Wissens nicht vor, und wir haben sie zum Gegenstand unserer folgenden Untersuchungen gemacht und als Objekt die Rotzkrankheit gewählt.

Es sollen Extrakte aus normalen und aus rotzigen Organen auf ihre Komplementbindungsfähigkeit beim Zusammenbringen mit dem Serum normaler und rotziger Pferde geprüft werden.

Wir haben, ähnlich wie bei der Syphilis, aus teils akut, teils chronisch rotzig erkrankten Teilen der Luftröhrenschleimhaut, der Lungen, der Leber, der Milz und Haut von 12 verschiedenen Pferden 4-proz. wässrige Extrakte hergestellt. Diese Extrakte wurden nach 2 Stunden langem Schütteln während der gleichen Zeit im Brutschrank bei 37° gehalten und nach etwa 16-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur filtriert. Die so gewonnenen klaren Extrakte wurden dann ähnlich wie die früheren Bakterienextrakte mit dem Serum rotzkranker Pferde geprüft. Wir haben niemals eine Komplementbindung festgestellt, ebenso wenig verhinderten die Organextrakte allein die Lysis, andererseits übten diese Extrakte in keiner Weise einen schädigenden Einfluß auf den hämolytischen Vorgang aus. Zu demselben Resultat kamen wir, wenn wir stärkere bzw. schwächere Konzentrationen für die Extrakte verwendeten.

Da mit den rotzigen Organen die Komplementbindung nicht auszulösen war, so war die Aussicht, mit Organextrakten rotzfreier Pferde brauchbare Resultate zu erhalten, noch viel geringer, und dies konnten wir tatsächlich durch ähnlich angelegte Versuche bestätigen. Wir dehnten unsere Versuche auch auf die Organe von Meerschweinchen aus, und zwar sowohl auf die Organe gesunder als auf die solcher Meerschweinchen, die mit Rotzbacillen künstlich infiziert worden waren. Hierbei wurde das Alter der Rotzkrankheit insofern beachtet, als in einigen Fällen die Organe von rotzkranken Meerschweinchen Verwendung fanden, die erst wenige Tage infiziert worden waren, in anderen Fällen Organe von solchen Meerschweinchen, deren Infektion 1—3 Wochen zurücklag. Stets erhielten wir dieselben negativen Resultate, wie bei der Benutzung der Pferdeorgane.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß sich der Rotz wesentlich anders verhält, als die Syphilis, denn wir haben kennen gelernt, daß bei der Syphilis nicht nur syphilitische, sondern auch Organe von gesunden Menschen und Tieren ausgezeichnet zur Komplementbindung geeignet sind. Wir gewinnen schon hierbei den Eindruck, daß die Komplementbindung bei der Rotzkrankheit eine biologische Reaktion darstellt, deren

1) Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 1103.

2) Weil, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 18.

Spezifität so weit geht, daß selbst Organextrakte rotziger Tiere die Reaktion nicht geben. Es mag dieses darauf beruhen, daß, wie bekannt, der Bacillenreichtum rotziger Organe nur außerordentlich gering ist und dementsprechend in den Extrakten solcher Organe nicht genügend Antigene vorhanden sind.

b) Alkoholische Extrakte.

Das Ergebnis der von Marie und Levaditi (l. c.) und anderen ausgeführten Versuche, nach denen die normalen Organextrakte dieselbe Wirkung wie die syphilitischen ausübten, machten es zur Gewißheit, daß die Reaktionsstoffe in den syphilitischen Lebern nicht von den vomluetischen Virus herrühren konnten. Der Umstand, daß man die normalen Organextrakte in stärkerer Konzentration verwenden mußte, als dieluetischen, erklärt sich ohne weiteres dadurch, daß durch die Syphilis diese Stoffe noch in besonder Menge gebildet werden.

Nach dieser Erkenntnis beschäftigte viele Autoren die Frage, welcher Natur diese reagierenden Substanzen sind, und auch hierin sollten bald wesentliche Fortschritte zu verzeichnen sein. Porges¹⁾ und Meyer wiesen auf Anregung von Wassermann²⁾ und unabhängig von diesen gleichzeitig Landsteiner-Müller-Pötzl³⁾ und Levaditi-Yamanouchi⁴⁾ nach, daß auch Alkoholextrakte dieselbe Reaktion ergaben, wie wässerige, und daß demnach die fraglichen Stoffe in Alkohol löslich und daher keine Eiweißsubstanzen, sondern Lipide sein müssen.

Es dürfte diesen Forschungen gegenüber von Bedeutung sein, nachzuweisen, wie sich die Rotzkrankheit nach dieser Richtung hin verhält, insbesondere ob auch hierbei die in den Extrakten enthaltenen Reaktionssubstanzen alkohollöslich sind. Besonders wichtig erscheint diese Frage für die Rotzbacillenextrakte selbst, da wir es hier mit einem Extrakt zu tun haben, der lediglich aus den Erregern der betreffenden Krankheit gewonnen wird.

Dieser Extrakt wurde in genau derselben Weise hergestellt, wie der wässerige, nur wurde beim Abschwemmen der abgetöteten Bacillenkulturen 96-proz. Alkohol verwendet. Die weiteren Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht und in der üblichen Weise an rotzkranken und rotzfreien Pferdeseris geprüft. Hierbei stellten wir die überraschende Tatsache fest, daß sich der alkoholische Rotzbacillenextrakt als absolut unwirksam erwies. Auch in starken Konzentrationen verursachte er keine Hemmung der Hämolyse und übte an und für sich keinen schädigenden Einfluß auf den hämolysischen Vorgang aus. Nach diesem Ergebnis war es von vornherein wenig wahrscheinlich, daß alkoholische Organextrakte rotzkranker bzw. rotzfreier Tiere für die Komplementbindung in Frage kamen, und dies haben tatsächlich die ausgeführten Versuche an rotzkranken und rotzfreien Pferden und Meerschweinchen bestätigt. Es liegt demnach auch hierin wieder ein wesentlicher Unterschied gegenüber der Luesreaktion vor. Da die Antigene bei der Rotzkrankheit nicht alkohollöslich sind, so ist es demnach ausgeschlossen, daß wir es mit Lipoiden zu tun haben.

1) Porges, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 1655.

2) Wassermann, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 1601.

3) Landsteiner-Müller-Pötzl, Wien. klin. Wochenschr. 1907. p. 1103.

4) Levaditi-Yamanouchi, Compt. rend. soc. de biol. 1907. No. 38.

5. Künstliche Extrakte.

Die Feststellung der Alkohollöslichkeit der wirksamen Stoffe der Organextrakte brachte einen wesentlichen Fortschritt in die Technik der Syphilisreaktion, da sich die Alkoholextrakte als viel länger haltbar als die wässerigen erwiesen. Aber auch für das Wesen der Syphilisreaktion war die Kenntnis der Alkohollöslichkeit von grundlegender Bedeutung; denn sie wurde die Veranlassung dafür, daß man versuchte, die alkoholischen Extrakte durch bekannte alkohollösliche Stoffe zu ersetzen. Es gelang Wassermann und Porges¹⁾ in dem Lecithin, Levaditi und Yamanouchi²⁾ in gallensauren Salzen Lipoide zu ermitteln, welche mit luetischem Serum stets eine positive Reaktion ergaben, die ausbleibt, sobald man normales Serum verwendet.

Später haben dann Fleischmann³⁾ im Cholestearin und Vaseline, sowie Sachs und Altmann⁴⁾ im oleinsauren Natrium ähnliche Reaktionsstoffe festgestellt.

Wenn es auch von vornherein wegen der Alkoholunlöslichkeit der in Frage kommenden Rotzantigene ausgeschlossen erschien, daß Lipoide einen brauchbaren Ersatz für die Rotzbacillenextrakte darstellten, so haben wir dennoch auch nach dieser Richtung hin unsere Versuche ausgedehnt. Als Antigen verwendeten wir die von Sachs und Rondoni⁵⁾ aufgestellten Gemische A und B, die peinlich genau nach den Vorschriften dieser Forscher hergestellt wurden. Das oleinsaure Natrium und die Oleinsäure wurden von Kahlbaum-Berlin bezogen, während das Lecithin (ovo) von Merck-Darmstadt geliefert wurde. Als Ausgangsmaterial dienten 1-proz. Lösungen von Lecithin und oleinsaurem Natrium in Alkohol. Die abgewogenen Seifenmengen wurden zunächst trocken in der Reibschale zerkleinert, sodann mit destilliertem Wasser (5 ccm auf 1 g) unter allmählichem Zusatz des Lecithins zu einer möglichst gleichmäßigen Emulsion sorgfältig gerührt. Zu der Emulsion wurde allmählich so viel Alkohol zugefügt, daß ein 1-proz. Seifenlösung entstand. Lecithin und Seifenlösung mischten wir nunmehr zu gleichen Teilen, und dann wurde die Mischung durch ein gehärtetes Papierfilter filtriert. Das Filtrat war absolut klar.

Zur Herstellung des Gemisches A bereiteten wir eine Mischung von 300 ccm 1-proz. Lecithin und 1-proz. oleinsauren Natrium in Alkohol, die Mischung beider Lösungen filtriert. 500 ccm des Filtrates wurden mit 500 ccm Alkohol gemischt und in diese Lösung 0,7 ccm Oleinsäure mittels Pipette eingeblasen.

Zur Herstellung des Gemisches B wurden je 150 ccm 1-proz. Lecithin und 1-proz. oleinsaures Natrium in Alkohol bereit. Von dem Filtrat dieser Mischung wurden 200 ccm mit 800 ccm Alkohol verdünnt. Dieser Lösung fügten wir 1,5 ccm Oleinsäure vorsichtig mit der Pipette zu. Diese Stammlösungen wurden im Eisschrank aufbewahrt.

Die zur Reaktion erforderliche fünffache Verdünnung der Gemische in physiologischer Kochsalzlösung haben wir nach Vorschrift jedesmal frisch hergestellt und dabei eine stark getrübbte, aber homogene Flüssigkeit erhalten. Beide Gemische wurden in Mengen von 1,0, 0,5, 0,3 0,1 und 0,05 zur Anwendung gebracht, und nebst den üblichen Kontrollen

1) Wassermann u. Porges, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. p. 1600.

2) Levaditi et Yamanouchi, Compt. rend. soc. de biol. 1907. No. 38.

3) Fleischmann, Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 490.

4) Sachs u. Altmann, Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 494.

5) Sachs u. Rondoni, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. p. 132.

an rotzigen Pferdeseris geprüft. Auch bei diesen Versuchen konnten wir niemals einen positiven Ausfall der Reaktion verzeichnen.

Die von Facchini¹⁾ festgestellte Hämolyse der Gemische A und B konnten wir nicht konstatieren.

C. Das Serum.

Nicht minder wichtig als das Antigen ist der Antikörper, in unserem Falle also das Serum, für die Spezifität der Reaktion. Soll beispielsweise die Komplementbindung zur Serodiagnose des Rotzes Verwendung finden, so ist es erforderlich, daß nur Sera von rotzkranken Tieren mit Bacillenextrakten eine Komplementbindung geben, diese aber ausbleibt, sobald wir Sera von gesunden oder mit anderen Krankheiten behafteten Tieren verwenden. Es wird deswegen im folgenden unsere Aufgabe sein, auch diese Frage einer näheren Prüfung zu unterziehen. Wir wenden uns zunächst dem Serum rotziger und gesunder Pferde zu und werden später die Sera von kranken Pferden, die nicht mit Rotz behaftet sind, einer Prüfung unterziehen.

1. Serum von rotzigen und gesunden Pferden.

a) Verdünnung des Serums.

Durch die Versuche von Schütz und Schubert ist festgestellt, daß rotzige Sera in der Regel einen Bindungswert von 0,1 und darunter haben, während die meisten rotzfreien Sera in Mengen von 0,2 ccm nicht reagieren. Hiermit stimmen auch unsere in der Tabelle 1 niedergelegten Untersuchungsergebnisse überein. Von besonderem Interesse schien es ferner, zu ermitteln, ob größere Mengen rotzfreier Sera die Komplementbindung zeigten und in dieser Hinsicht sich analog der Agglutination verhielten, bei welcher schon unter normalen Verhältnissen viel Agglutinine nachzuweisen sind. Die diesbezüglichen Untersuchungen ergaben keine Übereinstimmung, denn selbst Mengen von 1,0—1,5 ccm rotzfreien Serums waren nur äußerst selten imstande, im Verein mit Rotzbacillenextrakt und Komplement dieses zu binden. Indessen kommen gelegentlich gesunde Pferde vor, deren Sera auf Zusatz von 0,2 und sogar von 0,01 Bindung verursachen. Durch diese letzteren Pferde werden die bereits früher erwähnten Fehlresultate erzeugt.

Eine besondere Bedeutung für die Beurteilung der Komplementbindung ist der Frage zuzusprechen, ob das Serum eines gesunden Pferdes dauernd dieselbe Reaktion zeigt und wie sich dieser gegenüber die Sera rotziger Pferde verhalten. Wir haben bereits oben festgestellt, daß der Bindungswert des Serums rotziger Pferde mit dem 6. und 7. Tage ansteigt und später allmählich sinkt. Wie schnell dieser Absturz erfolgt, konnten wir bis jetzt wegen der Kürze der Beobachtungszeit noch nicht feststellen. Wir haben aber Pferde kennen gelernt, bei denen die Rotzkrankheit sicher schon mindestens 1 Jahr bestanden hat und trotzdem der Bindungswert des Serums noch 0,01 betrug. Es lassen sich hiernach für die Sera rotziger Pferde nach den bisherigen Beobachtungen bestimmte Normen nicht aufstellen, es macht aber den Eindruck, als wenn der Bindungswert des Serums ziemlich lange erhalten bleibt. Es würde dieses auch mit Beobachtungen übereinstimmen, die bei der Lues von Boas²⁾ gemacht worden sind, nach welchen sich bei dieser Krankheit der Bindungswert sehr lange erhält. Ob nach einer

1) Facchini, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 257.

2) Boas, Berl. klin. Wochenschr. 1909. p. 588.

Behandlung der Bindungswert sinkt, wie Citron u. a. bei der Syphilis beobachtet haben, konnte bei der Rotzkrankheit nicht festgestellt werden, da eine Behandlung des Rotzes bisher nicht ausgeübt wird.

Welchen Schwankungen der Bindungswert des Serums gesunder Pferde unterworfen ist, darüber können erst langjährige Erfahrungen entscheiden. Interessant dürfte aber immerhin ein Fall sein, den wir zu beobachten Gelegenheit hatten. Ein gesundes Pferd zeigte einen Bindungswert von 0,05 und einen Agglutinationswert von 500. Da das Pferd jahrelang in einem Bestande von 40 Pferden gestanden hatte, die weder klinisch noch auf Grund der Serodiagnostik irgendwelchen Rotzverdacht zeigten, auch mit einem anderen rotzigen Pferde nicht in Berührung gekommen waren, so erschien es ausgeschlossen, daß dieses Pferd rotzig war. Es blieb infolgedessen am Leben und wurde in Zwischenräumen von 6 Wochen untersucht. Schon nach den ersten 6 Wochen war auffallenderweise der Bindungswert auf 0,1, nach wiederum 6 Wochen auf 0,2 gestiegen und nach weiterer Zeit konnte bei Verwendung der üblichen Mengen Serums ein Bindungswert überhaupt nicht mehr beobachtet werden. Seit der Zeit ist bereits $\frac{3}{4}$ Jahr verflossen, das Pferd ist dauernd im Bestande geblieben und da auch während dieses Zeitraumes irgendwelche rotzigen Erkrankungen nicht beobachtet wurden, so kann man auch, ohne die Sektion bei diesem Pferde ausgeführt zu haben, annehmen, daß es gesund war. Es geht also aus dieser Beobachtung, die natürlich nicht zu verallgemeinern ist, hervor, daß gelegentlich einmal der Bindungswert des Serums rotzfreier Pferde sich verändern kann.

b) Erhitzung des Serums.

Bekanntlich wird das Serum des Menschen zur Luesreaktion durch eine $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung bei 56° inaktiviert. Es hat dieses Inaktivieren einmal den Zweck, das in jedem Serum enthaltene natürliche Komplement zu zerstören, ferner aber auch etwaige in dem Serum befindliche, die eigentliche Reaktion störende Stoffe zu vernichten. Wir wenden daher nach dem Vorgang von Schütz und Schubert auch bei Rotzreaktionen auf 56° erhitzte Pferdesera an.

Es sind nun in der Humanmedizin Versuche mit aktivem Menschenserum gemacht worden, wobei sich gezeigt hat (Boas), daß die syphilitischen Sera noch besser und früher reagieren, dagegen aber auch ein großer Teil nicht syphilitischer Sera häufig positive Luesreaktion zeigt, die ausbleibt, sobald das Serum inaktiviert wird. Aus diesem Grunde ist die Anwendung des aktiven Menschenserums nicht zu empfehlen.

Ähnliche Beobachtungen können wir auch beim Rotz nicht machen. Wenn wir unter sonst vollkommen gleichen Bedingungen statt des auf 56° erhitzten Pferdeserums das Serum in unerhitztem Zustande verwendeten, so erhielten wir meist schon in der extraktfreien Kontrolle spontane Hemmungen der Hämolyse. Es ist deshalb beim Rotz die Inaktivierung der Pferdesera in jedem Falle erforderlich.

Wir haben uns nun in weiteren Versuchen nicht auf die Temperatur von 56° beschränkt, sondern auch Temperaturen von 60° , 65° , 70° verschieden lange Zeit auf die Sera einwirken lassen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen zeigt die folgende Tabelle (p. 128).

Hiernach vertragen die Sera, ohne irgendwie in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt zu werden, Temperaturen von 60° genau so wie solche von 56° . Selbst Temperaturen von 65° , sofern sie nur $\frac{1}{4}$ Stunde lang

Tabelle 2.
Erhitzung der Sera.

+ Bindung des Komplements, also Ausbleiben der Hämolyse.
 — Keine Bindung des Komplements, also Hämolyse.
 ± Unvollständige Bindung des Komplements, also partielle Hämolyse.
 G = Gesundes Pferd.
 R = Rotziges Pferd.

Serummenge		Komplement	Extrakt	Kochsalz- lösung	Amboceptor	Blut- körperchen	unerhitzt	56° 15 Min.	56° 30 Min.	60° 15 Min.	60° 30 Min.	65° 15 Min.	65° 30 Min.	70° 15 Min.	70° 30 Min.
1,0	G	1,0	1,0	0	1,0	1,0	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1,0	G	1,0	0	1,0	1,0	1,0	+	+	+	—	—	—	—	—	—
0,5	G	1,0	1,0	0,5	1,0	1,0	+	+	±	—	—	—	—	—	—
0,5	G	1,0	0	1,5	1,0	1,0	+	+	±	—	—	—	—	—	—
0,2	G	1,0	1,0	0,8	1,0	1,0	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,2	G	1,0	0	1,8	1,0	1,0	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,2	R	1,0	1,0	0,8	1,0	1,0	+	+	+	+	+	±	—	±	—
0,2	R	1,0	0	1,8	1,0	1,0	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,05	R	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	+	+	+	+	+	±	—	±	—
0,05	R	1,0	0	2,0	1,0	1,0	±	—	—	—	—	—	—	—	—
0,01	R	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	+	+	+	+	+	—	—	—	—
0,01	R	1,0	0	2,0	1,0	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

einwirken, stören die Reaktionsfähigkeit der Sera nicht. Jedoch zerstören Erhitzungen auf 65° und 70° während 15 Minuten die komplementbindenden Körper des Serums geringgradig. Erhitzungen auf 70° und solche über 70° während 1/2 Stunde zerstören die Reaktionskörper völlig. (Zur Erhitzung auf 65° und darüber müssen die Sera verdünnt werden, um einer frühzeitigen Gerinnung vorzubeugen). Es haben sich bei diesen Erhitzungsversuchen besonders beachtenswerte und interessante Resultate ergeben.

- Zwecks Untersuchung auf Komplementbindung stand uns das Serum eines rotzfreien Maulesels zur Verfügung. Das auf 56° erhitzte Serum dieses Esels band schon spontan (ohne Zusatz von Rotzbacillenextrakt) das Komplement, so daß der eigentliche Komplementbindungsversuch mit ihm nicht ausführbar war. Das Bindungsvermögen des Serums war so stark, daß selbst Mengen von 0,001 ccm stets eine komplette Hemmung der Hämolyse veranlaßten. Dieses Serum wurde nun in ähnlicher Weise auf verschiedene höher gelegene Temperaturen erhitzt, und hierbei ergab sich die auffallende Tatsache, daß das spontane Bindungsvermögen des Serums verschwand, als dasselbe 30 Minuten auf 60° erhitzt war. Nach der angegebenen Erhitzung hatte das Serum also seine spontane Bindungsfähigkeit eingebüßt, trotzdem hatte es aber, wie auch die späteren Malleinversuche zeigen werden, nicht das Vermögen verloren, beim Zusammenbringen mit Extrakt die typische Rotzreaktion auszulösen. Es muß demnach die Erhitzung auf 60° die spontan bindenden Körper im Serum vernichten.

Wir glaubten ursprünglich, daß diese Erhitzung auch für Sera rotzfreier Pferde mit niederem Bindungswert Anwendung finden könnte, um die anscheinend nicht spezifischen Reaktionskörper zu vernichten. Leider hat sich diese unsere Hoffnung nicht bestätigt. Immerhin wird es sich empfehlen, um auch spontan hemmende Sera von vornherein auszuscheiden, nicht wie bisher üblich, eine Erhitzung auf 56°, sondern auf

60° zur Inaktivierung der Sera vorzunehmen, um so mehr, als wie unsere früheren Untersuchungen bereits gezeigt haben, eine Beeinflussung der Reaktionskörper durch eine Erhitzung auf 60° nicht stattfindet.

c) Abkühlung des Serums.

Naturgemäß sind von uns Versuche ausgeführt, welche zeigen sollten, ob durch eine Abkühlung die Wirksamkeit der Sera in irgendeiner Weise beeinflusst werden kann. Es hat diese Frage, abgesehen von ihrem theoretischen Interesse, auch eine gewisse praktische Bedeutung insofern, als im Winter häufig Sera in gefrorenem Zustande zur Untersuchung eintrafen.

Unsere diesbezüglichen Versuche haben wir bei Temperaturen von +4° bis +8° und von -10° bis -15° angestellt, und zwar mit dem Ergebnis, daß die Sera in keiner Weise durch die genannten Temperaturen geschädigt werden und daß demnach die Kälte einen Einfluß auf die Wirksamkeit der Sera nicht ausübt. Auch das wiederholte Auftauenlassen der Sera ist völlig belanglos.

d) Konservierung des Serums.

Zwecks Nachprüfung erwies es sich häufig als notwendig, die Sera längere Zeit konservieren zu müssen, und da von einer sterilen Gewinnung der Sera in der Praxis nicht die Rede sein konnte, so mußte durch Zusatz von Desinfizientien dem weiteren Wachstum der im Serum enthaltenen Mikroorganismen vorgebeugt werden. Es war deswegen von großer Bedeutung, festzustellen, wie sich durch Zusatz von Desinfektionsmitteln konservierte Sera der Komplementbindung gegenüber verhalten. Zur Konservierung wurden Karbol, Lysol, Formalin und Sublimat verwendet, von denen 1-proz., 5-proz., 10-proz. resp. 1-prom., 5-prom., 10-prom. wässrige Lösungen hergestellt wurden. Von diesen wurden je 1 ccm zu 9 ccm des zu prüfenden Serums zugesetzt. Den Einfluß dieser Desinfizientien zeigt folgende Tabelle.

Tabelle 3.

Einfluß von Konservierungsmitteln auf das Serum.

+ Bindung des Komplements, also Ausbleiben der Hämolyse.

— Keine Bindung des Komplements, also Hämolyse.

± Unvollständige Bindung des Komplements, also partielle Hämolyse.

k = extraktfreie Kontrolle.

Konservierungsmittel	Gesundes Pferd						Rotziges Pferd					
	0,2	0,2 k	0,1	0,1 k	0,05	0,05 k	0,05	0,05 k	0,02	0,02 k	0,01	0,01 k
1-proz. Karbol	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
5- " "	—	—	—	—	—	—	+	—	±	—	±	—
10- " "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1-proz. Lysol	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
5- " "	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—
10- " "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1-proz. Formol	±	±	±	±	±	±	+	±	+	±	+	±
5- " "	+	±	±	±	±	±	+	±	+	±	+	±
10- " "	+	+	+	+	±	±	+	±	+	±	+	±
1-prom. Sublimat	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
5- " "	—	—	—	—	—	—	±	—	±	—	—	—
10- " "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ohne Zusatz	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—

Aus der Tabelle ergibt sich, daß Serum ohne den Zusatz irgendeines Konservierungsmittels die besten Resultate ergibt. 1-proz. Lösungen von Karbol und Lysol zu 1-prom. Sublimat führen ebenfalls zu befrie-

digenden Ergebnissen. Bedenklich ist dagegen schon ein 5-proz. resp. 5-prom. Zusatz, während 10-proz. bzw. 10-prom. Lösungen die Reaktion vollständig zerstören. Formol kommt als Konservierungsmittel überhaupt nicht in Betracht, da es schon in geringen Mengen den Komplement-bindungsvorgang störend beeinflusst.

e) Eintrocknen des Serums.

Das Eintrocknen der Sera mit Hilfe des neuen, von der Firma Lautenschläger hergestellten Trockenapparates nach Heim schädigt die Sera am allerwenigsten. Wir trocknen deshalb neuerdings unsere Sera stets in einer Petri-Schale und bewahren die eingetrockneten Serumkristalle in einem Fläschchen auf. Da nach unseren Beobachtungen 0,9 ccm Trockensubstanz 10 ccm flüssigem Serum entsprechen, so muß das Trockenserum zum Gebrauch in der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst werden.

f) Fäulnis des Serums.

Die Fäulnis der Sera übt auf ihre Wirksamkeit fast keinen Einfluß aus, sobald sie nur kurze Zeit einwirkt. Lassen wir dagegen faulige Sera wochenlang stehen, so werden die Reaktionskörper zerstört. Wir haben die Sera 3—4 Tage lang bei Zimmertemperatur offen stehen lassen und dann noch mehrere Tage in den Brutschrank gebracht. Hierdurch stellte sich eine starke Fäulnis ein, welche sich durch üblen Geruch und Trübung der Flüssigkeit kennzeichnete, ohne daß jedoch die Sera in ihrer Wirksamkeit im mindesten geschädigt wurden. Es spielt demnach für die praktischen Verhältnisse die Fäulnis keine Rolle.

g) Alter des Serums.

Bezüglich des Alters der Sera konnten wir bis jetzt konstatieren, daß Sera, die etwa $\frac{1}{2}$ Jahr lang im Eisschrank bei einer Temperatur von $+4^{\circ}$ bis 6° unter $\frac{1}{2}$ -proz. Karbolzusatz aufbewahrt werden, kaum merklich etwas von ihrer Wirksamkeit einbüßen. Nach Analogie bei anderen Methoden glauben wir ferner auch, daß durch die von uns in neuerer Zeit geübte Eintrocknung der Sera eine fast unbeschränkte Haltbarkeit erzielt wird.

h) Lichtempfindlichkeit des Serums.

Gegen Licht, insbesondere direktes Sonnenlicht, muß auch das Serum geschützt werden, denn wir konnten feststellen, daß Sera rotziger Pferde, deren Bindungswert 0,01—0,02 betrug, nach etwa 1—2-tägigem Stehen bei Tages- resp. Sonnenlicht erheblich an ihrer bindenden Kraft einbüßen und oft erst in Mengen von 0,2 ccm und darüber eine positive Reaktion ergaben.

2. Serum kranker, aber rotzfreier Pferde.

Die praktische Bedeutung der Wassermannschen Reaktion bei der Lues war davon abhängig, einmal, daß gesunde Individuen diese Reaktion nicht gaben, ferner aber auch, daß mit anderen Krankheiten behaftete Menschen gleichfalls einen negativen Ausfall der Reaktion zeigten. Wir haben bereits vorher kennen gelernt, daß eine positive Reaktion bei gesunden Menschen selten ist und wenden uns daher jetzt lediglich den Erfahrungen zu, welche man mit dem Serum von kranken, aber nicht mit Lues behafteten Menschen bezüglich der Luesreaktion gemacht hat. Es liegen hierüber bereits eine große Anzahl von Untersuchungen vor, besonders auch über akute Infektionskrankheiten. Die Namen der einzelnen Autoren hier anzuführen, würde zu weit führen, als Ergebnis dieser Untersuchungen läßt sich zusammenfassend sagen, daß bei diesen Infektionskrankheiten nur in äußerst seltenen Fällen

einmal eine positive Reaktion beobachtet wurde. Nur beim Scharlach scheinen die Verhältnisse etwas anders zu liegen, insofern, als bei dieser Krankheit zuerst Much und Eichelberg¹⁾, später Händel-Schulz²⁾, Seligmann³⁾, Hecht, Latheiner und Wilenko⁴⁾ in wohl 50 Proz. der Fälle eine positive Luesreaktion erhalten haben. Aber auch diese Ergebnisse kommen für die praktische Brauchbarkeit der Luesreaktion nicht in Frage, weil diese Reaktionen nur während der ersten Krankheits-tage beobachtet werden. Auffallend ist dagegen, daß eine größere Anzahl von Protozoenkrankheiten eine positive Reaktion ergeben haben, und manche Autoren haben diese Eigentümlichkeit als einen weiteren Beweis dafür angesehen, daß die Lues eine echte Protozoenkrankheit ist. Untersuchungen hierüber liegen von Landsteiner, Müller und Pötzl⁵⁾ bei der Dourine, sowie von Manteuffel und Woyte⁶⁾ bei der Dourine und Nagana, von Much und Eichelberg⁷⁾ bei Malaria und Frambösie, von Bruck und Gessner⁸⁾ bei der Frambösie vor. Endlich haben Wechselmann und Meier⁹⁾ in einem Falle von Lepra, sowie Bruck und Gessner bei 71 Proz. tuberöser Lepra einen positiven Ausfall der Wassermannschen Reaktion beobachtet. Wenn nun diese Untersuchungen für theoretische Betrachtungen von großem Werte sein können, so sind sie doch nicht imstande, wenigstens in unseren Breitengraden, den Wert der Wassermannschen Reaktion bezüglich der Syphilis wesentlich zu beeinträchtigen, da die besonders in Frage kommenden Protozoenkrankheiten in unseren Gegenden keine Rolle spielen.

Auch für die Serodiagnose des Rotzes mit Hilfe der Komplementbindung war es von entscheidender Bedeutung, wie sich dieser Reaktion gegenüber Sera von rotzfreien, aber mit anderen Krankheiten behaftete Pferde verhalten. Wir möchten an dieser Stelle nicht versäumen, Herrn Kollegen Pflanz in Kreuzburg unseren Dank für die Einsendung zahlreicher Sera von kranken Pferden auszudrücken, wodurch uns die Möglichkeit gegeben war, die in Rede stehenden Untersuchungen auszuführen. In der folgenden Tabelle sind die von uns untersuchten Sera zusammengestellt.

Tabelle 4.
Komplementbindung kranker, aber rotzfreier Pferde.

Krankheit	Zahl der Fälle	Temperatur	Bindungs- vermögen	Agglutination
Druse	4	39,6—40,1	—	300—500
Influenza	7	39,8—40,4	—	300—600
Phlegmone	1		—	500
Kolik	1	39,5	—	600
Petechialfieber	1		—	400
Gehirnentzündung	1		—	400
Beschäl-euche	5	38,1—39,2	—	300—500
Dourine	1	38,5	—	500

1) Med. Klin. 1908. p. 1076.

2) Händel-Schulz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. p. 91.

3) Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. p. 340.

4) Hecht, Latheiner u. Wilenko, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 356.

5) Landsteiner, Müller u. Pötzl, Wien. klin. Wochenschr. 1907. p. 1421.

6) Manteuffel u. Woyte, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 29. Heft 2.

7) Much u. Eichelberg, Med. Klin. 1908. p. 1076.

8) Bruck u. Gessner, Berlin. klin. Wochenschr. 1909. p. 589.

9) Wechselmann u. Meier, Deutsche med. Wochenschr. 1909. p. 1340.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß, soweit unsere Erfahrungen reichen, keine der von uns untersuchten Krankheiten die Rotzreaktion ergaben. Es dürfte auch besonders wichtig sein, daß die Drüse, Beschälseuche und Phlegmone, welche differentialdiagnostisch beim Rotz sehr in Frage kommen, keine positive Reaktion zeigten.

3. Serum anderer Tiere.

Um festzustellen, ob das Serum anderer Tiere an Stelle des Pferdeserums bei der Komplementbindung irgendwelche bemerkenswerte Eigenschaften zeigt, haben wir das Blut der uns zugänglichen Haustiere, Esel, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund, Kaninchen, Huhn und Taube, untersucht, konnten aber innerhalb der in Frage kommenden Serumengen von 0,01—1,5 ccm niemals eine Bindung beobachten.

4. Serum von rotzfreien und rotzigen Meerschweinchen.

Zu den folgenden Versuchen wurden wir durch eine Arbeit Valentis¹⁾ angeregt. Valenti glaubt aus seinen Versuchen schließen zu müssen, daß einmal bei rotzigen Meerschweinchen größere Dosen Serum zur Bindung notwendig sind, als bei rotzigen Pferden und ferner, daß der Bindungswert künstlich rotzig infizierter Meerschweinchen schon am 3. Tage ansteigt, während wir bei rotzigen Pferden ein Ansteigen erst am 6.—10. Tage beobachten konnten. Wir haben infolgedessen eine größere Anzahl von gesunden und rotzkranken Meerschweinchen untersucht. Hierbei hat sich zunächst die auffallende Tatsache ergeben, daß die Sera von Meerschweinchen schon spontan ein großes Bindungsvermögen zeigen; denn wir konnten feststellen, daß von 24 Seris schon 19 bei Zusatz von 0,2—1,5 ccm ohne Anwesenheit von Bacillenextrakt eine Hämolyse verhinderten. Dagegen blieb diese Hemmung der Hämolyse aus, sobald wir Mengen unter 0,2 ccm verwendeten.

Wir haben ferner Sera von 15 künstlich rotzig infizierten Meerschweinchen vom 3.—16. Tage nach der Infektion untersucht und dabei ermittelt, daß bezüglich der Bindungsfähigkeit des Serums rotziger Meerschweinchen und derjenigen des Serums rotziger Pferde kein Unterschied besteht; denn auch die Sera rotziger Meerschweinchen zeigten einen Bindungswert von 0,1—0,01.

Ebensowenig lagen bezüglich des allmählichen Ansteigens der Komplementbindung Verschiedenheiten vor. Während der ersten 5 Tage zeigten die Sera niemals einen Bindungswert, der kleiner war als 0,2, und erst vom 6. Tage ab traten Bindungswerte von 0,1—0,01 auf (s. Tabelle 5).

Es stehen somit diese Ergebnisse im Widerspruch zu denjenigen von Valenti, ohne daß wir imstande sind, die Differenzen aufzuklären. Wir möchten jedoch zu bedenken geben, daß, wie vorher schon ausgeführt, die Sera von Meerschweinchen spontan bereits ein starkes Bindungsvermögen zeigen und dadurch leicht Irrtümer unterlaufen, besonders wenn, wie Valenti angibt, beim Meerschweinchen stets Mengen von 1—1,5 Serum für die Versuche benutzt werden. Ferner ist zu beachten, daß nach unseren Erfahrungen das Mallein für die Komplementbindungsversuche nicht besonders geeignet zu sein scheint, da dieses häufig gleichfalls spontan ohne Zusatz von Serum schon die Bindung verhindert.

1) Valenti, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. p. 98.

Tabelle 5.
Komplementbindungsergebnisse bei rotzigen und rotzfreien
Meerschweinchen.

Rotzige Meerschweinchen.				Rotzfreie Meerschweinchen.		
No.	Dauer der Infektion	Bindungswert	Spontane Hemmung	No.	Bindungswert	Spontane Hemmung
1	3 Tage	0,5	0,5	1	1,0	1,0
2	3 "	1,0	1,0	2	0,3	0,3
3	5 "	0,5	0,5	3	0,5	0,5
4	7 "	0,1	0,5	4	0,2	0,2
5	12 "	0,01	1,0	5	—	—
6	12 "	0,05	0,5	6	1,5	1,5
7	14 "	0,02	1,5	7	0,3	0,3
8	14 "	0,05	1,0	8	—	—
9	14 "	0,05	1,5	9	1,5	1,5
10	14 "	0,02	—			
11	15 "	0,01	1,0			
12	15 "	0,01	0,5			
13	15 "	0,01	—			
14	16 "	0,01	—			
15	16 "	0,01	1,5			

D. Der Ambozeptor.

Der Ambozeptor ist von uns in der üblichen Weise vom Kaninchen durch intravenöse Einspritzung von gewaschenen Hammelblutkörperchen gewonnen worden. Es zeigten sich dabei erhebliche Unterschiede in der Wertigkeit des Ambozeptors bei den einzelnen Kaninchen, die vollkommen gleich behandelt waren, ohne daß wir eine Ursache dafür anzugeben vermögen. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich auch, stets mindestens 6 Kaninchen zu gleicher Zeit vorzubehandeln, weil bedacht werden muß, daß einmal dieses oder jenes Tier während der Weiterbehandlung stirbt und daß ferner der Ambozeptor der Hälfte der Tiere nicht die gewünschte Höhe erreicht.

Wir haben auch in einem Falle das Schnellimmunisierungsverfahren von Fornet und Müller¹⁾ angewandt, indem wir am ersten Tage 5, am zweiten Tage 10, am dritten Tage 15 ccm gewaschener Hammelblutkörperchen in die Bauchhöhle eines Kaninchens spritzten und das Serum am 12. Tage nach Beginn der Behandlung untersuchten. Hierbei zeigte sich, daß das Serum einen Titer von 800 erreicht hatte und sich demnach für den hämolytischen Versuch als sehr brauchbar erwies. Leider verringerte sich dieser Titer des im Eisschrank aufbewahrten, mit Karbolsäure konservierten Serums schon nach 8 Tagen, so daß wir von weiteren diesbezüglichen Versuchen Abstand genommen haben. Auch das 3 Wochen nach der ersten Injektion dem Kaninchen entnommene frische Serum zeigte keine Hämolyse mehr.

Sehr wichtig für die Ausführung des Komplementbindungsversuches ist die Konservierung des Ambozeptors, damit man imstande ist, ohne zeitraubende Nachprüfungen ein und denselben Ambozeptor längere Zeit zu verwenden. Leider hat sich hierbei ergeben, daß weder durch Zusatz von Desinfizientien noch durch Aufbewahrung bei Temperaturen von 4—6°, sowie von —10 bis 15° eine gewisse Konstanz in der Haltbarkeit nicht festgestellt werden konnte. Manche Sera blieben monatelang un-

1) Fornet u. Müller, Zeitschr. f. biol. Techn. u. Method. Bd. 1. p. 201.

verändert, andere verloren schon innerhalb 8 Tagen ihre hämolytische Fähigkeit, so daß wir auf Grund dieser Ergebnisse gezwungen sind, wenigstens einmal in Zwischenräumen von 8 Tagen die Wertigkeit des Ambozeptors nachzuprüfen.

Die Widerstandsfähigkeit des Ambozeptors dem Tageslicht gegenüber ist sehr gering, denn wir konnten plötzliche Abnahme der lytischen Kräfte beobachten, wenn wir den Ambozeptor etwa 12 Stunden lang dem Tageslicht aussetzten. Erhitzungen auf 60° schädigen die Wirksamkeit des Ambozeptors nicht.

Der durch Tonfilter filtrierte Ambozeptor wird wesentlich in seiner Wirksamkeit beeinträchtigt.

E. Das Komplement.

Das Komplement ist bekanntlich der labilste von denjenigen Körpern, welche bei der Komplementbindungsmethode Verwendung finden, und es ist daher mit besonderer Sorgfalt zu behandeln. In Uebereinstimmung mit anderen Autoren konnten auch wir feststellen, daß die Einwirkung des Tageslichtes das Komplement sehr schädigt und daß ferner die Einwirkung der gewöhnlichen Zimmertemperatur bald seine Wirksamkeit vernichtet. Es ist daher notwendig, das Komplement stets dunkel und kühl zu halten.

Bei Aufbewahrung im gewöhnlichen Eisschrank ist das Komplement höchstens während eines Zeitraumes von 24—36 Stunden brauchbar, im „Frigo“ (— 10 bis 15°) dagegen behält dasselbe nach unseren Erfahrungen bis zu 14 Tagen seine Wirksamkeit. Es sei jedoch an dieser Stelle hervorgehoben, daß wir bei unseren sämtlichen experimentellen Untersuchungen stets frisch entnommenes Meerschweinchenserum verwendet haben, um einwandfreie Resultate zu erhalten.

Wie wir schon in der Einleitung gesagt haben, titrieren wir nach der Vorschrift von Schütz und Schubert zum Vorbeginn unseres Versuches stets genau diejenige Menge des Komplements aus, welche eben noch imstande ist, eine vollständige Hämolyse hervorzurufen und verwenden diese geringste Dosis, die nach unseren Erfahrungen durchschnittlich etwa 0,03 Meerschweinchenserum pro Röhrchen beträgt. Wir haben auf Grund unseres großen Erfahrungsmaterials gefunden, daß diese Austitration und die Verwendung der kleinsten noch eben komplett lösenden Menge beim Rotz absolut notwendig ist, und schließen uns völlig den von Schütz und Schubert gemachten Beobachtungen, welche neuerdings noch eine Erläuterung durch Schubert¹⁾ fanden, an. Verwendeten wir größere Mengen Komplements, so liefen wir Gefahr, daß bei dem Bindungsvorgang nicht alles Komplement gebunden wurde, ein Rest übrig blieb und dieser genügte, nach Zusammenbringen mit dem inaktiven hämolytischen System die Hämolyse hervorzurufen, wodurch Irrtümern Tür und Tor geöffnet war. Folgende Tabelle dürfte das eben Gesagte am besten erläutern (s. Tabelle 6).

Es muß an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß es als ein besonderes Verdienst von Schütz und Schubert anzuerkennen ist, diese Austitrierung des Serums für die Rotzdiagnose eingeführt zu haben; denn ohne dieselbe, und wenn man lediglich die Wassermannsche Technik bei der Syphilis befolgt hätte, wäre die Brauchbarkeit der Komplementbindung für den Rotz außerordentlich in Frage gestellt worden.

1) Schubert, Arch. f. wissenschaft. u. prakt. Tierheilk. Bd. 35. 1909.

Tabelle 6.

+ Bindung des Komplements, also Ausbleiben der Hämolyse.

— Keine Bindung des Komplements, also Hämolyse.

± Unvollständige Bindung des Komplements, also partielle Hämolyse.

Rotziges Serum	Extrakt	Komplement	Kochsalz-lösung	Ambozeptor	Blut-körperchen	Ergebnis
0,02	1,0	0,1	1,9	1,0	1,0	—
0,02	0	0,1	2,9	1,0	1,0	—
0,02	1,0	0,05	2,0	1,0	1,0	±
0,02	0	0,05	3,0	1,0	1,0	—
0,02	1,0	0,04	2,0	1,0	1,0	+
0,02	0	0,04	3,0	1,0	1,0	—
0,02	1,0	0,03	2,0	1,0	1,0	+
0,02	0	0,03	3,0	1,0	1,0	—
0,02	1,0	0,02	2,0	1,0	1,0	+
0,02	0	0,02	3,0	1,0	1,0	—
0,02	1,0	0,01	2,0	1,0	1,0	+
0,02	0	0,01	3,0	1,0	1,0	±
0,02	1,0	0,005	2,0	1,0	1,0	+
0,02	0	0,005	3,0	1,0	1,0	+

Bei der Schwierigkeit, welche mit der Gewinnung des Meerschweinchenserums verbunden ist — denn für jede Versuchsreihe muß ein Meerschweinchen geopfert werden — haben wir versucht, die Sera anderer uns zugänglicher Tiere für die Komplementbindung zu verwerten. Es hat sich indessen hierbei gezeigt, daß die Sera des Rindes, der Ziege, des Schweines, des Schafes, des Hundes, des Kaninchens, des Huhnes und der Taube nicht brauchbar sind.

Da man ferner glaubte, die Komplementbindungsmethode bei der Syphilis dadurch vereinfachen zu können, daß man an Stelle des Meerschweinchenserums das Serum des Menschen verwendete und hierzu einfach die Inaktivierung des zu untersuchenden Serums unterließ, so haben auch wir Untersuchungen nach dieser Richtung hin angestellt. Wir unterließen die Inaktivierung des Pferdeserums und brachten dieses aktive Pferdeserum allein mit dem Bacillenextrakt zusammen, in der Hoffnung, daß das im Pferdeserum enthaltene Komplement zur Auslösung einer brauchbaren Reaktion genüge. Es ergab sich aber, daß dieses nicht der Fall war, denn wir bekamen sowohl mit den Seris rotziger wie gesunder Pferde in der Regel keine Hämolyse. Auch der Zusatz von besonderem Serum von einem gesunden Pferde an Stelle des Meerschweinchenserums führte nicht zu brauchbaren Resultaten.

F. Die Blutkörperchen.

Wir verwendeten für unsere Versuche 3—6mal gewaschene und zentrifugierte Blutkörperchen des Hammels. Schon nach wenigen Blutentnahmen konnten wir feststellen, daß die Löslichkeit dieser Blutkörperchen sich verändert, und zwar in der Regel zunimmt. Wir haben deswegen bei unseren zahlreichen Untersuchungen stets mehrere Hammel vorrätig gehalten, um bei jedem Tiere in der Blutentnahme eine längere Zeit pausieren zu können.

Wir konnten ferner bei Verwendung verschiedener Hammel feststellen, daß sich auch die Löslichkeit des Blutes dieser verschiedenen Hammel keineswegs gleich verhält. Schon diese einfachen Erfahrungen in dem Wechsel der Löslichkeit, die wir bei diesen Versuchen machen konnten, belehrten uns, daß es nicht angebracht ist, ohne weiteres, wie

manche Autoren vorschreiben, 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmungen für die Versuche zu verwenden, sondern in der Prozentigkeit zu variieren, je nachdem wir es mit leicht oder schwer löslichen Blutkörperchen zu tun hatten. Die Löslichkeit der Blutkörperchenmasse selbst hängt zweifellos einmal von der Menge der in ihr enthaltenen Blutkörperchen ab, ferner aber auch von der ihnen eigenen Labilität. Daraus erklärt sich auch, daß die Blutkörperchen von verschiedenen Hammeln verschieden sind und auch nach mehrmaliger Blutentnahme von demselben Hammel ihre Eigenschaften ändern; denn einmal ist die Blutkörperchenmenge selbst bei Tieren der gleichen Art nicht konstant, ferner nimmt die Blutkörperchenmenge nach mehrmaligem Aderlassen ab.

Wir haben nun in der Austitrierung des Komplements ein vorzügliches Mittel, um uns über die Lösungsfähigkeit der bei jedesmaligem Gebrauch verwendeten Blutkörperchen zu orientieren. Beobachten wir, daß beispielsweise 0,05 Komplement nicht imstande ist, unsere Hammelblutkörperchen im Verein mit dem Ambozeptor vollkommen zu lösen, so schließen wir daraus ohne weiteres, daß die Blutkörperchenlösung zu dicht ist, und das Umgekehrte, wenn schon 0,01 Komplement die komplette Lösung herbeiführen. Je nachdem nun das eine oder das andere vorliegt, nehmen wir mehr oder weniger Blutkörperchen, in der Regel variieren wir zwischen einer 5—10-proz. Blutkörperchenaufschwemmung.

Auch bezüglich der Haltbarkeit lassen sich feste Normen nicht aufstellen, denn wir haben gefunden, daß manchmal Blutkörperchen noch am zweiten Tage nach der Entnahme gut brauchbar sind, im anderen Falle dagegen nicht. Es hängt dies wahrscheinlich mit der verschiedenen Labilität der Blutkörperchen zusammen und die Brauchbarkeit älterer Blutaufschwemmungen ist daran leicht zu erkennen, ob nach 24-stündigem Stehen der Aufschwemmung die überstehende Flüssigkeit klar und farblos ist, oder nicht. Im ersteren Falle sind die Blutkörperchen noch verwendbar, im letzteren nicht.

6. Malleinversuche.

Von besonders praktischer Bedeutung dürfte der Einfluß, welchen das Mallein auf die Komplementbindung beim Rotz ausübt, sein, und zwar deswegen, weil häufig zur Rotzdiagnostik das Mallein verwendet wird, und von Miessner¹⁾ bereits festgestellt ist, daß das Mallein in der Mehrzahl der Fälle einen ähnlichen Einfluß auf den Agglutinationswert des Serums ausübt, wie die Rotzbacillen selbst. Zur Entscheidung dieser Frage haben wir einer größeren Anzahl von rotzfreien Pferden Mallein eingespritzt und die Komplementbindung bei den täglich diesen Pferden entnommenen Blutproben geprüft. Die uns zur Verfügung stehenden 5 Pferde und 1 Maulesel waren Versuchspferde des Instituts und sämtlich frei von Rotz. Sie erhielten pro Pferd eine Dosis Malleinum siccum Foth und zeigten hiernach weder lokale Reaktion noch eine nennenswerte Temperatursteigerung. Bei 2 dieser Pferde blieben auch der Agglutinations- und Bindungswert unverändert. Dagegen zeigten die übrigen Tiere verschieden starke Reaktionen, wie aus den folgenden Kurven zu ersehen ist.

Hieraus ergibt sich, daß häufig der Bindungswert des Serums rotzfreier malleinisolierter Pferde am 6.—10. Tage ansteigt, längere Zeit hoch bleibt und dann wieder sinkt. Interessant ist, daß wir eine Veränderung der Agglutination gleichzeitig mit der Komplementbindung in 3 Fällen

1) Miessner, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 34. 1908.

Kurve 2. Stute No. 30.



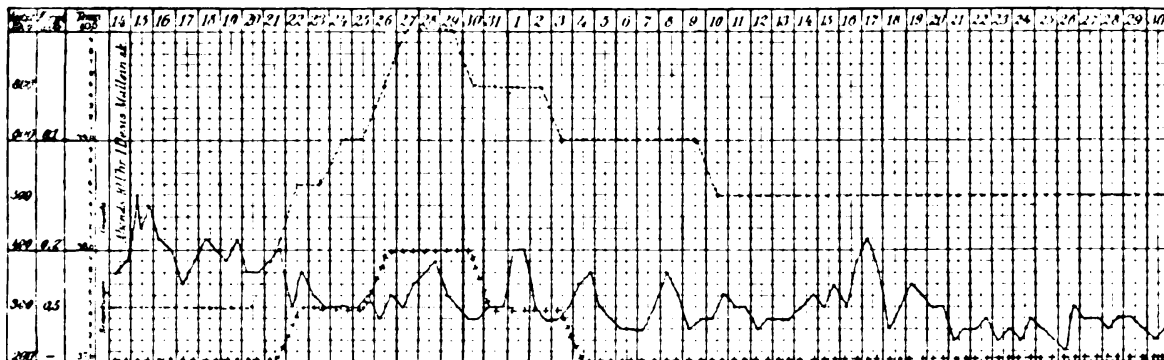
— Temperatur.
 Bindungswert.
 ----- Agglutinationswert.

Kurve 3. Pferd Liese.



— Temperatur.
 Bindungswert.
 ----- Agglutinationswert.

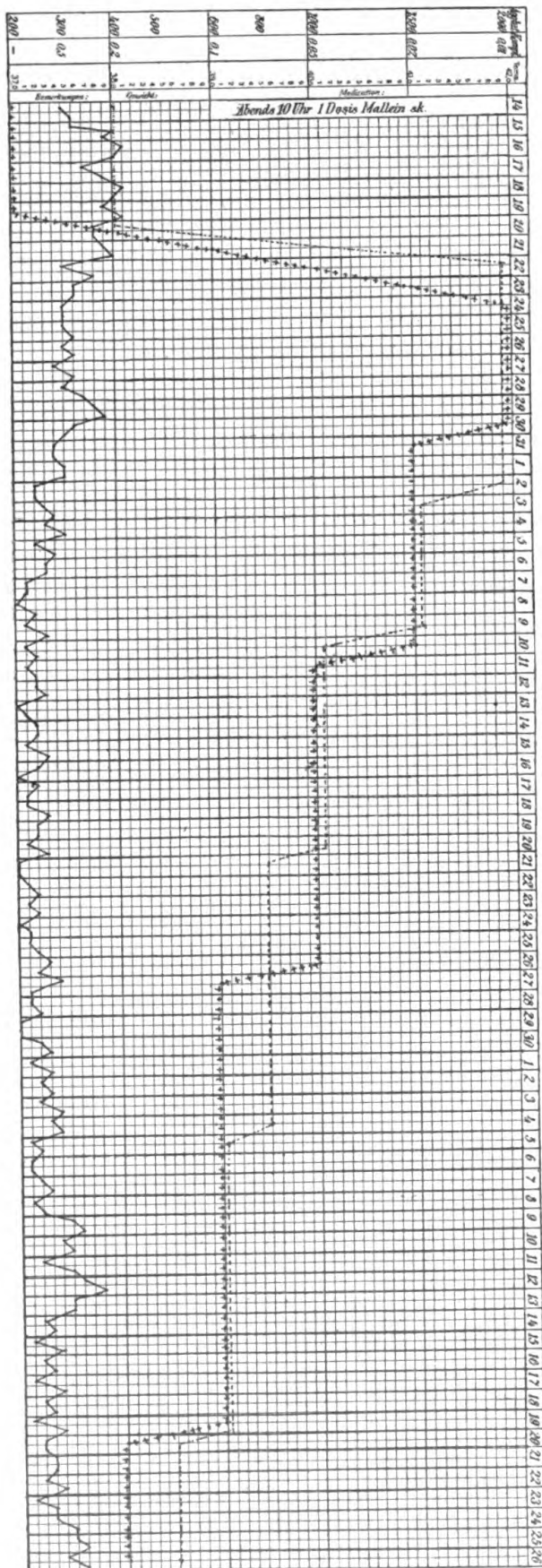
Kurve 4. Pferd Morsa.



— Temperatur.
 Bindungswert.
 ----- Agglutinationswert.

beobachtet haben, während bei einem Tiere zwar eine Komplementbindung, aber keine Agglutination eintrat. Bezüglich der Dauer, während welcher der Komplementbindungswert beobachtet wird und bezüglich der Höhe desselben unterscheiden sich rotzige und malleinisierte Pferde,

— Temperatur.
 ++++ Bindungswert
 --- Agglutinationswert.



ähnlich wie bei der Agglutination; denn auch bei der Komplementbindung bleibt der Bindungswert malleinierter Pferde nur verhältnismäßig kurze Zeit hoch und erreicht in der Regel nicht die Werte, die wir bei rotzigen Pferden zu finden gewöhnt sind.

An dieser Stelle möchten wir noch auf einen Versuch hinweisen, welcher bereits oben angedeutet ist. Das Serum des Maulsesels (Kurve 5) zeigte ständig eine spontane Bindung, so daß es ursprünglich für die Malleinversuche überhaupt nicht geeignet erschien. Durch die Erhitzung dieses Serums auf 60° gelang es uns, wie wir schon vorher anführten, die das hämolytische System hemmenden Körper zu zerstören, und wir konnten nun nach Erhitzung des Maulseselerserums auf 60° den Komplementbindungsversuch anstellen, wobei sich ergab, daß eine Bindung nicht eintrat. Spritzten wir nun diesem Tiere Mallein ein, so begann der Bindungswert mit dem 6. Tage zu steigen und erreichte schon am

Kurve 5. Maulsesel.

12. Tage eine Höhe von 0,01. Auch dieses Serum erhitzen wir stets $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60°. Es zeigt dieser Versuch, daß man imstande ist, durch die Erhitzung auf 60° die spontan hemmenden Körper zu vernichten, ohne die Spezifität zu zerstören.

Die Versuche lehren gleichzeitig, daß die Malleinisation in allen den Fällen nicht ausgeführt werden darf, in denen die Komplementbindung als Diagnostikum Verwendung finden soll.

Einfluß der Malleinisierung auf das Serum rotzkranker Pferde.

Zur Ermittlung der Veränderung des Bindungswertes rotzkranker Pferde, denen kurze Zeit vor der Blutuntersuchung zwecks Feststellung der Diagnose Mallein eingespritzt worden ist, standen uns 5 rotzige Pferde von einem Gute in der Nähe Brombergs zur Verfügung. Dieselben waren von uns auf Grund der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode als rotzkrank ermittelt worden und sollten infolgedessen laut ministerieller Verfügung getötet werden. Unsere Versuche wurden in der Weise angestellt, daß wir 5 Tage nach der ersten Blutuntersuchung diesen Pferden nochmals Blut entnahmen, um etwaige Veränderungen in dieser Zeit feststellen zu können. Dann wurde den Tieren je eine Dosis Malleinum siccum Foth unter die Haut gespritzt und die Temperatur durch 2-stündliche Messungen kontrolliert. Die Resultate sind in folgender Tabelle niedergelegt:

Datum	Stunde	Pferd I	Pferd II	Pferd III	Pferd IV	Pferd V
19. Aug.	10 Uhr abends	39,2	38,9	38,4	39,3	38,8
19. "	10 ¹⁵ " "	Einspritzung des Malleins				
20. "	6 " morgens	40,6	40,2	39,0	40,1	40,6
20. "	8 " "	41,0	40,5	39,2	40,5	40,9
20. "	10 " vorm.	40,1	40,0	39,5	40,5	40,5
20. "	12 " mittags	40,7	40,6	39,7	40,6	40,3
20. "	2 " nachm.	40,5	40,1	39,4	40,3	40,3
20. "	4 " "	40,7	39,4	39,3	40,2	39,8

Eine nennenswerte lokale Reaktion der Impfstelle wurde in keinem Falle beobachtet, auch das Allgemeinbefinden der Tiere war im ganzen wenig gestört, nur Pferd No. III zeigte ein stark eingenommenes Sensorium, Appetitlosigkeit und einen schwankenden Gang. Zum Studium des Einflusses des Malleins auf das Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen wurde diesen Pferden am 1., 4., 6. und 8. Tage nach der Injektion Blut entnommen und mit den übrigen Proben an demselben Tage zugleich untersucht. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

Datum	Pferd I		Pferd II		Pferd III		Pferd IV		Pferd V	
	Aggl.	Kompl.	Aggl.	Kompl.	Aggl.	Kompl.	Aggl.	Kompl.	Aggl.	Kompl.
14. Aug.	1000	0,01	500	0,1	1000	0,1	800	0,1	1500	—
19. "	1000	0,01	500	0,1	1000	0,1	800	0,1	1500	0,1
19. "	Einspritzung des Malleins									
20. "	1000	0,01	500	0,1	1000	0,1	1000	0,1	1500	0,1
23. "	1000	0,01	600	0,1	1000	0,1	1500	0,1	1500	0,1
25. "	2000	0,01	2000	0,05	1500	0,05	2000	0,05	2000	0,05
27. "	2000	0,01	2000	0,02	2000	0,05	2000	0,05	2000	0,02

Am 27. August wurden diese 5 Pferde in unserem Beisein getötet und obduziert und erwiesen sich alle als rotzkrank. Pferd I zeigte rotzige Veränderungen der Lungen und Kehlgangsymphknoten, die ungefähr 8 Wochen alt sein mochten, die Pferde II, III und IV wiesen wesentlich ältere rotzige Veränderung an den Lungen auf, während Pferd No. V mit frischen Rotzherden in der Haut, Lunge, Milz und Leber behaftet war.

Aus obiger Tabelle ergibt sich zunächst, daß Pferd No. V bei der ersten Blutuntersuchung noch keinen Bindungswert zeigte und erst nach 5 Tagen den Titer 0,1 erreichte, während der Agglutinationswert schon am 1. Tage ein hoher war. Es muß daher angenommen werden, daß in diesem Falle sich die Agglutinine eher gebildet haben, als die Stoffe, welche die Komplementbindung erzeugen. Ferner sehen wir, daß bei den Pferden II—V am 6. Tage nach der Malleinisierung etwa gleichzeitig mit dem Agglutinationswert auch die Bindungswerte ansteigen, und nach weiteren 2 Tagen in den Fällen II und V noch höhere Werte erreicht haben. Bei Pferd I, das von vornherein den höchsten Bindungswert anzeigte, ist nur der Agglutinationswert erheblicher angestiegen. Leider konnten wir die Beobachtungszeit nicht länger ausdehnen, da die Pferde aus veterinärpolizeilichen Gründen getötet werden mußten, und so konnten wir nicht entscheiden, wie hoch die beiden Titres der Sera überhaupt ansteigen und wie lange sie sich auf der Höhe erhalten. Es ist aber wohl anzunehmen, daß sich die Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion der Sera rotzkranker Pferde nach der Malleinisation ähnlich verhalten, wie die gesunder malleinisierten Pferde, d. h. nach verhältnismäßig kurzer Zeit wieder auf das ursprüngliche Niveau herabsinken.

Schluß.

Aus den vorstehenden Versuchen geht hervor, daß die Komplementbindung im Verein mit der Agglutination ein ausgezeichnetes Hilfsmittel für die Erkennung der Rotzkrankheit darstellt. Bei gleichzeitiger Anwendung beider Methoden ist es möglich, innerhalb kürzester Frist alle rotzigen Pferde eines Bestandes zu ermitteln, ohne daß dabei eine nennenswerte Menge rotzfreier Pferde verdächtigt wird. Die Methoden lassen sich in größeren Laboratorien ohne Schwierigkeiten ausführen und es gelingt, bei sachgemäßer Einrichtung mit Leichtigkeit täglich etwa 50 Sera zu untersuchen. Beide Methoden haben gewisse Nachteile, aber sie ergänzen sich so glücklich, daß die Nachteile der einen Methode durch die Vorzüge der anderen gedeckt werden und es empfiehlt sich demnach, stets beide Methoden zur Beurteilung gleichzeitig anzuwenden.

Was die Beziehungen der Komplementbindungsmethode beim Rotz zur Syphilisreaktion anbelangt, so haben wir kennen gelernt, daß im Gegensatz zur Syphilis wässrige und alkoholische Organextrakte von rotzkranken und gesunden Pferden oder von anderen Tieren sowie alkoholische Bakterienextrakte nicht verwendbar sind. Ebensowenig geben Lipide mit rotzigen Seris eine Komplementbindung. Wir erhalten lediglich beim Zusammenbringen von Bakterienflüssigkeiten bzw. deren Extrakten mit rotzigen Seris eine Reaktion und es bedarf daher kaum eines weiteren Beweises, daß die Komplementbindung beim Rotz eine spezifische biologische Reaktion darstellt, die auf der gegenseitigen Einwirkung von

Antigen und Antikörper beruht. Hierin liegt ein fundamentaler Unterschied gegenüber der Syphilisreaktion. Die Komplementbindung syphilitischer Sera gelingt nicht nur beim Zusammenbringen mit Extrakten syphilitischer Organe, sondern auch gesunder Organe, ja sogar mit chemisch dargestellten lipoiden Substanzen. Es erscheint daher ausgeschlossen, beide Vorgänge miteinander zu identifizieren. Das einzige Gemeinsame, was ihnen zukommt, ist die Bindung des Komplements; die Prozesse, welche zu dieser Bindung führen, sind grundverschieden.

Die in der Arbeit erzielten Ergebnisse sind in folgendem kurz zusammengefaßt:

1) Die Komplementbindung liefert im Verein mit der Agglutination ein positives Resultat bei 95,7 Proz. rotziger und 1,27 Proz. rotzfreier Pferde. Unter 200 rotzansteckungsverdächtigen Pferden reagieren die Sera von 2 rotzfreien Pferden und bleibt die Reaktion bei dem Serum eines rotzigen Pferdes aus, trotzdem ist bei unserem bisher vorliegenden umfangreichen Untersuchungsmaterial kein Pferd als rotzig erkannt, welches nach Abschluß der Untersuchungen als rotzfrei bezeichnet worden war.

2) Als geeignete Antigene für den Komplementbindungsversuch müssen wässrige Extrakte von Rotzbacillen angesprochen werden, die durch Verdünnung einer Agarkultur mit der 250—1000-fachen Menge Karbolkochsalszwasser hergestellt sind.

3) Durch Tonfilter filtrierte Extrakte sind ungeeignet.

4) Ein Unterschied in der Wirksamkeit zwischen Aufschwemmungen von Vollbakterien und Bakterienextrakten besteht beim Rotz nicht.

5) Die Rotzbacillenextrakte bzw. -abschwemmungen sind 4 Monate lang brauchbar.

6) Die Antigene sind gegen Tageslicht sehr empfindlich, sie vertragen dagegen die Siedehitze, sowie Temperaturen von -10° bis -15° C.

7) Das Malleinum siccum Foth ist als Antigen für die Komplementbindung schlecht geeignet.

8) Das Antiformin eignet sich zur Herstellung von Rotzbakterienextrakten.

9) Wässrige Organextrakte rotziger und rotzfreier Pferde und Meerschweinchen geben mit dem Serum rotziger Pferde keine Komplementbindung.

10) Alkoholische Rotzbacillenextrakte sowie alkoholische Extrakte aus Organen rotzkranker und rotzfreier Tiere sind für die Komplementbindung unbrauchbar.

11) Gemische von oleinsaurem Natrium, Oleinsäure und Lecithin ergeben im Verein mit dem Serum rotziger Pferde keine Komplementbindung.

12) Der Bindungswert des Serums rotziger Pferde steigt für gewöhnlich zu Beginn der Erkrankung an, um mit zunehmendem Alter der Rotzkrankheit wieder zu sinken.

13) Gelegentlich kann der Bindungswert des Serums gesunder Pferde Schwankungen unterworfen sein.

14) Nicht inaktivierte Sera gesunder Pferde hemmen die Hämolyse, weshalb die Sera stets zu inaktivieren sind.

15) Die Antikörper im Serum vertragen Temperaturen von 60° und selbst 65°, falls sie nur $\frac{1}{4}$ Stunde lang einwirken. Temperaturen über 65° zerstören die Reaktionsfähigkeit des Serums.

16) Erhitzungen auf 60° zerstören in allen Fällen die spontan bindenden Körper des Serums, ohne die Reaktionskörper zu schädigen. Es ist deswegen zum Inaktivieren des zu untersuchenden Serums stets eine Temperatur von 60° und nicht von 56° zu empfehlen.

17) Niedere Temperaturen bis zu -15° schädigen die Reaktionsfähigkeit des Serums in keiner Weise.

18) 1-proz. Lösungen der gewöhnlichen Desinfektionsmittel beeinflussen die Reaktionsstoffe des Serums nur gering.

19) Das Eintrocknen schädigt die Sera nicht, dagegen besitzen sie eine bedeutende Lichtempfindlichkeit.

20) Sera rotzfreier, aber mit anderen Krankheiten behafteter Pferde zeigen keine Reaktion.

21) Sera rotziger Meerschweinchen verhalten sich ebenso wie die Sera rotziger Pferde.

22) Die Wirksamkeit des konservierten Ambozeptors ist Schwankungen unterworfen, welche wiederholte Nachprüfungen notwendig machen.

23) Die Titrebestimmung des Komplements ist bei der Verwendung der Komplementbindung für die Serodiagnose des Rotzes unbedingtes Erfordernis.

24) Die Malleinisation übt auf das Serum einen ähnlichen Einfluß wie die Infektion mit Rotzbacillen aus, nur sind die Reaktionen nicht so stark und laufen in kürzerer Zeit ab.

Nachdruck verboten.

Regarding the value of the Van Gieson and the Romanowsky malarial stains for the detection of Coccidia¹⁾.

[From the Division of Biology of the Rhode Island Agricultural
Experiment Station, Kingston, Rhode Island.]

By Philip B. Hadley.

The discovery that the so-called "blackhead" of turkeys so common in this country, is a form of Coccidiosis²⁾, and that the causative organism, *Coccidium cuniculi*, is one of the most important factors in the causation of the so-called "white diarrhea" of chicks³⁾, and of some cases of roup in fowls³⁾, has called the attention of the students of protozoology in this country to the presence of a protozoan parasite whose ravages are annually costing the country hundreds of thousands of dollars. The same organism has been found by the writer repeatedly in fowls, chicks, ducks, geese, pheasants, pigeons, sparrows, thrushes, juncoes, quail, and less occasionally in grouse; and it frequently causes high mortality among all these species. In some of these birds a typical Coccidiosis of the intestinal tract has been observed. In other cases it seemed probable that the coccidia were not in a highly active state. With Coccidiosis so common, especially in the domestic birds, it is ostensibly of advantage to have at hand some method for accurate diagnosis of the condition. In different species of birds, and even in the same species at different times in the course of the disease, the pathological conditions observed present great variability. For this reason, it is frequently difficult, upon macroscopic evidence, to separate Coccidiosis from many other diseases which may produce an inflammation of the walls of the intestines or ceca, or necrosis and desquamation of the lining epithelium, and even mucosa. The surest methods for recognizing Coccidiosis lie in the detection of certain stages of the coccidia in the intestinal content, or among the denuded cells lying near the walls. It is the purpose of this communication to describe the technique used successfully by the writer in detecting, by means of the Van Gieson and the Romanowsky malarial stains, certain stages of *Coccidium cuniculi*, found in the ceca, liver and intestines of turkeys, sparrows, the common fowl and other wild and domestic birds.

Preparation of the smears: Of all histological methods by which it is desired merely to detect the presence of a protozoan parasite without necessarily conserving the normal orientation of the tissue-elements (greater than cells), and the topographic relation of the parasite thereto, it cannot be questioned that the smear method excels all others. Its chief advantage is the rapidity with which the smear may be made, fixed and stained. If it is properly made distortion of the elements will not appear. Whether in the present case the smears are

1) Papers from the Division of Biology. No. 5.

2) Blackhead: A coccidial disease of Turkeys. (Science. N. S. Vol. 27. 1908. p. 704, 994.)

3) Studies in avian Coccidiosis: I. White diarrhea of chicks; II. Roup of fowls. (Centralbl. f. Bakteriologie. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 348—353.)

to be stained by the Van Gieson or by the Romanowsky solution, they may be prepared in the same way, although this differs somewhat with the nature of the material that is to be examined. According to the pathological conditions present, it may be desired to examine for coccidia either the content of the intestines or ceca, the scrapings from the epithelial walls of the same, or, in case of inflammation and thickening of the cecal or intestinal wall, the deeper tissues of the mucosa and submucosa. Less often it may be necessary to examine the tissue of other organs, such as the spleen, pancreas, or liver.

If the material to be examined is from the cecal or intestinal content, a small portion of this may be transferred to the middle of a clean glass slide. If the inner mucous lining is to be examined, the cecum or intestine may be slit up and a bit of the inner layer be scraped away with a toothpick or platinum needle. After placing the specimen in the middle of the slide, the cover-glass is imposed, and with gentle pressure by means of forceps, pressed down until the material has spread to the edge. Next, still using the forceps, the cover-glass is pushed along the slide toward the right, thus producing a smear which, according to the degree of the pressure, is thicker at the left and thinner at the right side. If the cecal or intestinal wall is much thickened, as is frequently the case with blackhead of turkeys, or Coccidiosis in other domestic birds, and the content is composed merely of a heavy core of coagulated serum and desquamated cells, the best result may be obtained as follows: Place upon the middle of a slide a drop of clear serum or ascitic fluid. Having removed a segment of the organ (this may apply also to the liver, spleen or pancreas) to be examined, this should be cut transversely with a clean scalpel. With the forceps one of the segments should be held and rubbed, with the cut surface downward, on the slide until a small amount of the material to be examined has been worn off. Then a cover is imposed, and after pressing down, pushed across the slide to the right and removed as in the previous instance.

When these smears, made as described above, are nearly dry, they should be placed for five minutes in absolute alcohol, after which they are dried in air, and are then ready for staining.

The Van Gieson stain: This stain, which the writer has found of great advantage in the detection of the Negri bodies in rabbits, is of value in demonstrating many varieties of protozoan parasites, especially the sporozoa. For use with the Coccidia it may be made up as follows. To 10 c. c. of distilled water, add 2 drops of saturated 95-percent alcoholic solution of rose aniline violet, and 10 drops of a 50 percent solution (saturated aqueous solution diluted one half) of methylene blue.

When the smears are quite dry the slides should be flooded with the stain and held over a free flame, increasing the heat very slowly, until steam arises. Then the stain should be at once turned off and the slide washed in water, after which it is dried with filter paper and then in air. The preparation may be examined with oil immersion, the oil being placed directly upon the smear. A cover-glass should be used when permanent slides are desired. It should be said here that the stain, mixed as described above, is not effective for more than an hour. Old stain should never be used.

In well stained smears, the various histological elements should appear as follows: Blood cells, orange red with blue nuclei; blood

vessels — walls purple or blue; serum, orange or orange-yellow; epithelial cells, light blue; nuclei, dark blue; connective tissue cells, blue; coccidia, pink, crimson, or magenta — sometimes showing a faint, bluish nuclei, if in the right stage. The stage which takes the crimson stain the most readily is the schizont. The macrogametes stain very faintly, and the encysted stage not at all. The sporozoites are seldom found, and the merozoites, which can usually be observed in not more than one out of ten cases, generally stain a nearly homogeneous blue, or show nothing but the nuclei.

This stain is of no value in demonstrating the details of nuclear structure. Its chief field of use is in the rapid detection of coccidia when these are present in the soft material of the intestines or ceca.

The Romanowsky stain: This stain was first used in 1891, to stain the nuclear material of the malarial plasmodium. Since that time it has been used, either as originally devised or modified, for many other blood parasites, especially the flagellates. As a true and rapid differential stain between protozoan organisms and body cells, the Romanowsky stain is probably of less value than the stain of Van Gieson. The chief value of the former is to bring out the finest detail in nuclear structure and thus eliminate questionable artifacts and products of cell degeneration. This stain has been used by the writer with excellent results in demonstrating the finer nuclear structure of nearly all the stages of *Coccidium cuniculi*.

To every cubic centimeter of the prepared eosin solution (I)¹⁾ add two drops of the methyl blue solution (II)¹⁾. The size of the drops may vary; the writer has used ordinary medicine droppers, measuring about 23 drops to the cubic centimeter. This mixture is placed in the bottom of a shallow, flat-bottomed glass dish²⁾ and the smears, after fixation in absolute alcohol as described above, are placed, film side down, in the stain. The heavy precipitate which forms directly upon mixing the two ingredients of the stain is no disadvantage to the effectiveness of staining. The period of staining depends somewhat upon the nature of the material and upon the strength of the stain. Fifteen minutes (but at the most one half hour) will usually accomplish the process. It is usually desirable to examine the smears from time to time during the process with the low power lens to watch the progress of the staining. If, after ten minutes, the nuclear elements do not begin to stand out in red-purple, it is well to add a drop or two more of the methylene blue solution to the stain. If the smear has become over-stained the results may be amended to a slight extent by washing the slide for a few minutes in a solution of eosin — 1 c. c. of a $\frac{1}{1000}$ solution in 200 c. c. water; this should be followed by washing in pure water. After staining and washing, the slides should be dried in air — not dehydrated with alcohol; and then covered.

In properly stained smears many of the stages of the coccidia may be recognized either by the shape and size, or by the arrangement of the nuclear material. Since this is not a purely chromatic stain there is not much differentiation between the cytoplasmic portion of the protozoa and that of the body cells; and for this reason the coccidia, if few in number, are less easily recognized than in the case of the

1) This is prepared for the trade by Bausch & Lomb.

2) A $4\frac{1}{2} \times 5\frac{1}{2}$ inches rectangular glass dish having longitudinal ridges in the bottom, such as is frequently used in photographic work, serves the purpose very well.

Van Gieson stain, which brings out a greater contrast in the cytoplasm. The schizonts are colored bluish-purple with the nuclear material deep reddish purple. Sometimes there is a single central nucleus, at others the nucleus is fragmented and the fragments are arranged about the periphery of the schizont. The nucleus of the sporozoites and of the merozoites stains deep reddish purple. The cytoplasm of the merozoites stains weakly purple, but usually stronger at the posterior end. Just posterior to the nucleus can usually be observed a small spherical body which stains deep blue. The nuclei of the microgametocytes, when the fragmentation is complete, stain deep bluish-purple, and the young microgametes appear to take the bluish-purple almost homogeneously, no trace of a special nuclear structure being observable. The encysted stage of the *Coccidium* remains unstained.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Züchtung des *Meningococcus*.

[Aus dem Hygienischen Institute der Universität Greifswald (Direktor: Geh. Med.-Rat Professor Dr. F. Löffler).]

Von P. Esch.

Bei der Züchtung des Erregers der Genickstarre begegnet man gewissen Schwierigkeiten. Diese Schwierigkeiten treten besonders in den Vordergrund, wenn es sich um die Gewinnung einer Reinkultur von Kokken aus menschlichen Materialien handelt. Dabei kann man auf ein Wachsen des *Meningococcus* Weichselbaum bekanntlich nur rechnen, wenn man eine reichliche Aussaat von möglichst frischem Material auf einem Nährboden macht, der genuines Eiweiß und womöglich menschliches Eiweiß enthält.

In hiesiger Gegend kommt die Meningitis epidemica nur sporadisch vor, und nur selten wird das Hygienische Institut in dieser Beziehung zur bakteriologischen Untersuchung in Anspruch genommen. In allerletzter Zeit hatten wir aber Gelegenheit, einigemal die bakteriologische Diagnose Genickstarre zu stellen. Mit zwei gewonnenen Meningokokkenstämmen machten wir nun Versuche, um einige der früher von anderen Autoren angegebenen Nährböden einer Nachprüfung zu unterziehen, und um womöglich ein optimales Kulturmedium für dieselben zu finden.

Vorausschicken möchte ich, daß wir die bakteriologische Diagnose Genickstarre durch den Nachweis von charakteristisch aussehenden, intracellulär liegenden Diplokokken im Lumbalpunktate, die sich nach Gram entfärbten, ferner auf Grund derselben färberischen Eigenschaft der aus dem Lumbalpunktate gezüchteten Kolonien und durch Agglutination der gewonnenen Reinkulturen stellten. Unsere Stämme agglutinierten mit einem vom Institute für Infektionskrankheiten erhaltenen Antimeningokokkenserum, welches den Titer 250 aufwies, stets bis zur Titergrenze. Ferner möchte ich vorausschicken, daß im Laufe unserer Versuche die Kulturen nach jeder Umzüchtung durch die Gramsche Färbung, und des öfteren durch die Agglutination, die immer dasselbe positive Resultat ergab, kontrolliert wurden.

Bei den Züchtungsversuchen auf den verschiedenen Nährböden wurden die einzelnen Platten bzw. Röhrchen selbstverständlich stets

mit möglichst gleichen Mengen der Meningokokkenkulturen besät, und zwar wurden sie teils unverdünnt, teils nach Verdünnung in Kochsalzlösung (1 bzw. $\frac{1}{2}$ oder $\frac{1}{4}$ Platinöse voll in 10 ccm NaCl-Lösung verrieben) übertragen.

Einer vergleichenden Prüfung in bezug auf Isolierung und Fortzüchtung des Meningococcus wurden nun folgende Nährböden unterzogen:

- 1) der gewöhnliche Peptonagar,
- 2) der Ascitesagar (75 Teile Peptonagar + 25 Teile Ascitesflüssigkeit),
- 3) das Löffler-Serum,
- 4) das Buchanau-Rinderblutserum (1) (dieser Nährboden ist eine Modifikation des Löffler-Serums; er besteht nämlich aus 75 Teilen Rinderblutserum, 25 Teilen Bouillon, 1 Proz. Zucker mit Zusatz von 0,5 : 10000 Neutralrot).

Auf dem gewöhnlichen Agar gelang es uns nicht, trotz reichlicher Aussaat des Lumbalpunktatsedimentes, den Meningococcus zu isolieren.

Anders waren die Resultate bei der Fortzüchtung von gewonnenen Reinkulturen. Sie gelang bei reichlicher Aussaat im allgemeinen sehr gut; die Kolonien hatten kein charakteristisches Aussehen, sie ließen sich leicht abheben und verreiben. Bei Beimpfung der Agarröhrchen mit starken Verdünnungen einer Kultur war allerdings höchstens ein Wachstum von ganz vereinzelt, punktförmigen Kolonien, meist aber überhaupt kein Wachstum zu konstatieren. Dabei erschienen die spärlichen Kolonien häufig erst nach 2—3 Tagen, während sie nach reichlicher Aussaat schon innerhalb 24—36 Stunden erkennbar waren. Es zeigte sich auch ein auffallender Unterschied in der Weiterzüchtung jüngerer und älterer Generationen der Kulturen, was zwei Beispiele erläutern mögen. So wuchs bei der Uebertragung von einer dritten Generation eines auf Serum gezüchteten Stammes innerhalb 24 Stunden ein feiner, dichter Rasen. Die Kokken wiesen im mikroskopischen Bilde reichlich Involutionsformen auf, und ihre Fortzüchtung gelang auf gewöhnlichem Agar nur durch 3 Generationen; während wir nach Verimpfung von einer 36. Generation eines ebenfalls auf Serum gezüchteten Stammes die gewonnene Seitenlinie bis zur 28. Generation, bei täglicher Umzüchtung, auf Peptonagar fortzüchten konnten. Und zwar wuchs zunächst ein üppiger, saftiger Rasen von Meningokokken, der aber nach einigen Tagen in einen feinen Rasen überging; dann zeigten sich nur mehr disseminierte, aber noch zahlreiche Kolonien, die mikroskopisch viele Involutionsformen enthielten, schließlich wuchsen nur noch einzeln feine Kolonien, bis das Wachstum bei der 28. Generation vollständig sistierte. Diese beiden Beispiele bestätigen die Tatsache, daß die Meningokokken in den älteren Generationen, wo sie sich bereits an die künstlichen Nährsubstrate gewöhnt haben, weniger anspruchsvoll in bezug auf die Zusammensetzung des Nährbodens sind, als in jüngeren Generationen.

Bemerkenswert ist, daß unser Agar mit 1-proz. Pepton Witte hergestellt wurde, da nach den Angaben einer Anzahl von Autoren nur der mit Pepton Chapoteaut hergestellte Agar für die Fortzüchtung der Meningokokken geeignet sein soll.

Der Ascitesagar bewährte sich zur Isolierung der Meningokokken in der bekannten Weise. Die charakteristischen Kolonien, wie

sie von v. Lingelsheim (2) angegeben und von anderen bestätigt worden sind, waren 24 Stunden nach der Besäung, mit Ausnahme eines Falles, deutlich erkennbar. In diesem Falle entwickelten sie sich erst innerhalb 36 Stunden. Auch zur Fortzüchtung bewies uns der Ascitesagar seine Brauchbarkeit.

Erwähnen möchte ich, daß wir versuchshalber den im Röhrchen abgefüllten Ascitesagar verschiedenemal im Dampftopfe eine Stunde lang sterilisierten. Das Eiweiß der Ascitesflüssigkeit koagulierte natürlich durch das Kochen, und es lag nach Erstarrung des Agars in schräg gestellten Röhrchen, zusammengeballt als weißer Niederschlag unter der Oberfläche desselben. Die Stämme wuchsen, unverdünnt und verdünnt übertragen, auf dem sterilisierten Ascitesagar fast ebenso gut und ebenso schnell wie auf dem gewöhnlichen Ascitesagar. Diese Beobachtung dürfte vielleicht einmal mit Vorteil in Anwendung gebracht werden, und sie dürfte im gegebenen Falle den Nachteil, daß dieser Nährboden nicht durchsichtig ist, aufwiegen.

Da die Coagula der Ascitesflüssigkeit unter der Oberfläche des erstarrten Agars lagen, schlossen wir, daß in dem Agar trotz des Kochens eine für das Wachstum der Meningokokken noch hinreichende Menge Eiweiß von der Ascitesflüssigkeit gebunden sei. Infolgedessen suchten wir den Nachteil der Undurchsichtigkeit auf folgende Weise zu beheben: 25 Ascitesflüssigkeit wurden mit einer NaCl-Lösung $\frac{1}{4}$ Stunde lang gekocht und dann filtriert. Das Filtrat wurde zu 75 ccm Peptonagar zugesetzt, und diese Mischung eine Stunde lang sterilisiert. Der so gewonnene Nährboden war zwar klar, aber er zeigte sich für das Wachstum der Meningokokken dem gewöhnlichen Ascitesagar entschieden unterlegen. Auch ein zweiter Versuch in dieser Richtung ergab dasselbe negative Resultat. Er bestand darin, daß der nach Vorschrift bereitete Ascitesagar in einer Flasche sterilisiert wurde. Beim Abkühlen im Dampftopfe fiel das koagulierte Eiweiß in der Flasche zu Boden, so daß der klare Teil der Mischung in Röhrchen abgefüllt werden konnte.

Bei der Verwendung des Löffler-Serums kamen wir zu keinem von den Angaben anderer Autoren abweichenden Ergebnis. Ein Vergleich zwischen der Güte des Löffler- und Buchanan-Serums für die Meningokokkenzüchtung zeigte uns eine Ueberlegenheit des letzteren. Wir erklärten uns diese Tatsache durch den höheren Zuckergehalt des Buchanan-Serums. Es enthält 1 Proz. Zucker, während das Löffler-Serum ja nur 0,25 Proz. enthält. Auf Grund dieser Annahme setzten wir auch dem Ascitesagar 1 Proz. Zucker, und zwar 1 Proz. Maltose, zu. Bei vergleichenden Versuchen sahen wir daraufhin ein üppigeres und schnelleres Wachstum auf dem Maltose-Ascitesagar, als auf dem gewöhnlichen Ascitesagar. Dieselbe Beobachtung hat schon Jochmann (3) gemacht, der allerdings $1\frac{1}{2}$ Proz. Traubenzucker dem Ascitesagar zusetzte. Er gibt an, daß sich dann die Meningokokkenkolonien schon in 12 Stunden entwickelt hätten.

Das Buchanan-Serum versagte ebenfalls bei der Züchtung der Meningokokken in der ersten Generation nie. Die charakteristischen, gleichmäßigen, glatten, leicht konvexen, feuchten, durchscheinenden Kolonien waren aber auch erst 24 Stunden nach der Uebertragung des verdächtigen Materiales deutlich erkennbar, in einem Falle sogar erst nach 48 Stunden. Das Wachstum war schleimig-zähe, so daß sich die Kulturmasse schwer abstreichen und noch schwerer verreiben ließ. Im übrigen steht seine Brauchbarkeit fast ebenso hoch wie die des Ascites-

agars, wie wir bei den verschiedensten Versuchen immer wieder sehen konnten. Bei vergleichenden Besäungen mit in Kochsalzlösung hergestellten Verdünnungen wuchsen die Keime auf diesen beiden Nährböden gleich schnell, allerdings wies der Maltose-Ascitesagar stets eine größere Anzahl von Kolonien auf als das Buchanan-Serum.

Die Rosafärbungen der Kolonien, wie sie nach Buchanan bei dem Maltosezusatz fast ohne Ausnahme auftreten sollen, konnten wir nicht konstant beobachten.

Für die Fortzüchtung des Weichselbaumschen *Diplococcus* ist dieser sehr haltbare Nährboden besonders geeignet. Auch scheint die Widerstandsfähigkeit der Meningokokken auf diesem Kulturmedium eine verhältnismäßig sehr große zu sein. Als Beispiel führe ich nur an, daß wir von ein und demselben Kulturröhrchen dieses Serums (Generation XIII, Stamm I) Tag für Tag, 43 Tage hindurch ein neues Röhrchen desselben Nährbodens mit positivem Erfolge besäten. Dabei wurde dieses Stammröhrchen ohne Gummikappe im Brutofen aufbewahrt, und die von ihm angelegten 43 Kulturen wurden in derselben Weise aufgehoben. Eine Uebertragung von einer dieser Kulturen, die 60 Tage alt war, auf dasselbe Nährsubstrat und Maltose-Ascitesagar ergab noch ein üppiges Wachstum von Meningokokken, die durch Färbung und Agglutination als solche bestätigt wurden. Selbst wenn man auch zugeben muß, daß einzelne Stämme der Meningokokken verschieden widerstandsfähig sind, so ist diese Beobachtung doch eine auffallende zu nennen, und sie widerspricht der allgemeinen Annahme, daß man die Stämme ängstlich gegen Austrocknung durch Gummikappen schützen müsse, um sie lebensfähig zu erhalten, und daß man selbst ältere Generationen mindestens alle 8 Tage umzüchten müsse.

Eine Zeitlang verwendeten wir zur Weiterzüchtung der Stämme eine geringe Modifikation dieses Nährbodens. Anstatt des Blutserums nahmen wir defibriniertes Blut. Das Wachstum war auf dem modifizierten Nährsubstrate etwas üppiger, als auf dem originalen Nährboden, aber es war noch mehr schleimig-zähe, als auf diesem.

Den bis jetzt erwähnten Nährsubstraten haftet nach unseren und anderen Erfahrungen der Fehler an, daß bei der Züchtung in der ersten Generation das Wachstum der Meningokokken erst nach 24 Stunden deutlich erkennbar ist. Aus diesem Grunde suchten wir einen günstigeren Nährboden ausfindig zu machen. Nun wird neben dem allgemein anerkannten Ascitesagar von Jochmann, v. Lingelsheim, Schottmüller (4) und anderen auch der Blutagar als Nährboden für die Meningokokken angegeben und zum Teil auch empfohlen. Wir machten daraufhin Versuche mit einer Kombination dieser beiden Nährsubstrate, der wir auch wieder 1 Proz. Maltose zusetzten. Wir fanden, daß der neue Nährboden die optimale Zusammensetzung darbot, wenn wir 60 ccm Peptonagar (1 Proz. Pepton Witte), nach Abkühlung auf etwa 50° C, mit 20 ccm sterilem, defibriniertem Hammelblute, 10 ccm Ascitesflüssigkeit und 1,0 g Maltose, in 3 ccm Bouillon aufgelöst, mischten. Dieser Hammelblut-Maltose-Ascitesagar wurde verschiedentlich neben Maltose-Ascitesagar, Löffler- und Buchanan-Serum mit verschiedenen starken Verdünnungen von unseren Meningokokkenstämmen besät. Hierbei ergab sich konstant das

wichtige Resultat, daß die Kokken stets am schnellsten und bei weitem am üppigsten und massenhaftesten auf dem neuen Nährboden wuchsen. Die Kolonien waren innerhalb 8—12 Stunden in runder, praller, glatter Form von durchsichtiger Beschaffenheit und grauweißlicher Farbe sichtbar; etwa 24 Stunden nach der Besäung bekamen sie einen silbergrauen Schimmer.

Einmal hatten wir auch Gelegenheit, diesen Nährboden bei der Isolierung der Meningokokken aus dem Lumbalpunkate zu prüfen. Zwei Platinösen von dem durch Zentrifugieren gewonnenen Sedimente wurden absteigend auf 3 Hammelblut-Maltose-Ascitesagar-Platten übertragen. 8 Stunden später waren schon neben anderen Kolonien die typischen Meningokokkenkolonien in Stecknadelkopfgröße zu sehen. Sie wurden sofort auf ein Röhrchen mit demselben Nährboden gebracht, und 24 Stunden nach Inangriffnahme der Untersuchung hatten wir eine üppige Reinkultur von Meningokokken, die das vom Institute für Infektionskrankheiten gelieferte Antiserum bis zur Titergrenze (250) deutlich agglutinierten. Jetzt erst, nachdem vermitteltst des Hammelblut-Maltose-Ascitesagar die bakteriologische Diagnose Genickstarre bereits gestellt war, waren auf den anderen Nährböden einzelne Kolonien erkennbar.

Diese Möglichkeit zur schnellen bakteriologischen Diagnose der Meningitis epidemica dürfte für die Therapie des Einzelfalles nach den neuesten Erfahrungen mit der frühzeitig angewandten, spezifischen Serumbehandlung nicht belanglos sein. Auch ist ihr natürlich für die Verhütung der Weiterverbreitung der Krankheit Wert beizulegen, da sie uns sehr schnell in die Lage setzt, zweckentsprechende Maßnahmen anordnen zu können.

Literatur.

- 1) Buchanan, Bericht über den XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Dermographie. Berlin. 1907. Bd. 4.
- 2) v. Lingelsheim, Klin. Jahrb. Bd. 15.
- 3) Jochmann, Med. Klinik. Jahrg. 1. p. 644.
- 4) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 34.

Nachdruck verboten.

Normale Cerebrospinalflüssigkeit als Nährboden für pathogene Bakterien.

Von Dr. Livio Vincenzi,

o. Professor für allgemeine Pathologie an der Universität zu Sassari.

Heute wird so oft die Medullarnarkose angewandt, daß Cerebrospinalflüssigkeit leicht zu erhalten ist. Doch selten bietet sich Gelegenheit, eine große Menge des Liquor spin. zu bekommen und, was für die normale Beschaffenheit desselben unentbehrlich ist, ohne Spuren von Blut.

Wasserklare, aseptische Cerebrospinalflüssigkeit erhielt ich mehrere Male von der hiesigen chirurgischen Universitätsklinik (Direktor Prof. Roth).

Dieselbe wurde gleich nach den ausgeführten Punktionen des Lumbalsackes mit folgenden Mikroorganismen geimpft:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bac. typhi</i>
<i>Streptococcus erysipelatis</i>	" <i>coli</i>
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	" <i>paratyphi A</i>
<i>Gonococcus</i>	" " <i>B</i>
<i>Tuberkelbacillus</i> (Mensch)	" <i>melitensis</i>
<i>Pestbacillus</i>	" <i>dysentericus Shiga</i>
<i>Diphtheriebacillus</i>	<i>Vibrio cholerae</i> .
<i>Milzbrandbacillus</i>	

Alle Kulturen waren vorher bezüglich ihrer Lebensfähigkeit sowie der Intensität der Entwicklung genau studiert.

Die Cerebrospinalflüssigkeit impfte ich mit gleichen Quantitäten der genannten Bakterien. Sofort wurden auch gewöhnliche flüssige, geeignete Nährsubstrate mit denselben Mikroorganismen in gleicher Menge infiziert.

Nach 12—24—36—48 Stunden, für einige Bakterien noch länger, machte ich von beiden Kulturserien Plattenkulturen und verglich dieselben. Für den *Gonococcus* verwendete ich Serumagar; für den *Tuberkelbacillus* Glyzerinagar, für die anderen gewöhnlichen Agar.

Das Resultat meiner Untersuchungen war folgendes. Einige Bakterien kamen gar nicht zur Entwicklung. Diese waren:

<i>Diplococcus pneumoniae</i>	<i>Pestbacillus</i>
<i>Gonococcus</i>	<i>Diphtheriebacillus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Tuberkelbacillus</i> .

Kümmerlich wuchsen:

Staphylococcus aureus und *Milzbrandbacillus*.

Die Entwicklung des

<i>Bac. typhi</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
" <i>coli</i>	<i>Dysentericus Shiga</i>
" <i>paratyphi A</i>	<i>Bac. melitensis</i>
" " <i>B</i>	

war dagegen etwas besser, doch nie üppig.

Diese Resultate stimmen mit denen von Concetti (1) nicht überein. Dieser Autor machte Untersuchungen mit folgenden pathogenen Bakterien: *Streptococcus pyogenes*, *Bac. diphtheriae*, *Staphylococcus albus*, *Pneumococcus* von Fränkel, *Bact. coli commune*. Alle diese Mikroorganismen kamen zur Entwicklung, doch waren die Kulturen spärlich.

Den Unterschied gegenüber meinen Versuchen kann man sich leicht erklären, wenn man bedenkt, daß die von Concetti gebrauchte Flüssigkeit keine normale Cerebrospinalflüssigkeit war. Er benutzte hydrocephalische Flüssigkeit, welche von ventrikulären Punktionen zweier mit Hydrocephalus behafteten Kindern herrührte. Dieselbe hatte einen Gehalt von 0,15—0,20 bis 0,25 prom. Eiweiß, war also von der physiologischen Cerebrospinalflüssigkeit zweifellos verschieden.

Unerklärlich dagegen sind mir die Resultate von Jemma (2). In seinen Versuchen mit dem *Diplococcus pneumoniae*, dem *Bac. typhi* und mit dem *Milzbrandbacillus* fand er, daß die Cerebrospinalflüssigkeit nicht nur ein guter Nährboden für solche Bakterien war, sondern auch, daß sich die Virulenz der Mikroorganismen in dem Liquor cerebrospinalis steigerte.

Diese zunehmende Wirkung der Virulenz war in der Cerebrospinalflüssigkeit von ganz gesunden Menschen bemerkbar, noch deutlicher im Liquor spinalis von sich erholenden Kranken und bei Personen mit hohem Fieber.

Ich habe drei verschiedene Pneumokokken geprüft. Alle 3 stammten aus dem Auswurfe von Pneumonikern und waren für Mäuse und Ka-

ninchen sehr virulent. Kein einziges Mal gelang es mir, ein auch nur minimales Wachstum in Cerebrospinalflüssigkeit zu konstatieren.

Was die Virulenz der geimpften Bakterien anbelangt, so will ich betonen, daß ich von vielen derselben ganz genau wußte, welche Dosis die Tiere tötete. So war es z. B. der Fall mit dem angewandten *Bac. coli*. Dieser Bacillus wuchs in der Cerebrospinalflüssigkeit ziemlich gut, doch änderte sich seine Virulenz in keiner Weise. Auch der verwendete *Staphylococcus aureus*, welcher von einem tödlich verlaufenen Falle herstammte und für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen virulent war, zeigte nach der Impfung in die Cerebrospinalflüssigkeit keine Veränderungen im Grade der Infektiosität.

Meine Versuche sprechen also gegen die von Jemma angegebenen Resultate.

Wenn auch normale Cerebrospinalflüssigkeit in keinem Falle sich als geeigneter Nährboden für pathogene Bakterien zeigte, so fand ich doch mehrere Mikroorganismen, die im Liquor cerebrospinalis gediehen. Unter diesen war, wie ich oben sagte, der *Vibrio cholerae*.

Hier will ich bemerken, daß Tizzoni und Giuseppina Cattani (3) in der Cerebrospinalflüssigkeit zweier an Cholera gestorbenen Menschen Kommabacillen ohne Beimengung anderer Mikroorganismen gefunden haben.

Meine Untersuchungen, glaube ich, sind nicht ohne Interesse. Wenn man bedenkt, wie oft heute die Medullarnarkose gebraucht wird, muß man auch eine direkte Infektion des Liquor spinalis mit der Injektionspritze und mit den angewandten anästhesierenden Lösungen als möglich ansehen. Wenn auch glücklicherweise die eingeführten Bakterien kein gutes Nährsubstrat im Liquor spinalis finden, können doch manche von ihnen, z. B. die Staphylokokken, sich vermehren. Es wäre also ein Irrtum, zu glauben, daß normale Cerebrospinalflüssigkeit ein mächtiges und sicheres Schutzagens gegen die Invasion von Infektionskeimen sei.

Die Chirurgen müssen also unbedingt die Asepsis sehr sorgfältig ausführen.

Zusammenfassung.

Der *Diplococcus pneumoniae*, *Gonococcus*, *Streptococcus erysipelatis*, *Pestbacillus*, *Diphtheriebacillus* und der *Tuberkelbacillus* wachsen in normaler Cerebrospinalflüssigkeit nicht.

Kümmerlich gedeiht der *Staphylococcus aureus* und der *Milzbrandbacillus*.

Eine besondere Entwicklung zeigen: *Bac. typhi*, *Bact. coli*, *Bac. paratyphi A* und *B*, *Vibrio cholerae*, *Bac. dysentericus* Shiga und *Bac. melitensis*.

4. August 1909.

Literatur.

- 1) Concetti, Luigi, Chemische Untersuchungen über die hydrocephalische Flüssigkeit und über ihre Wirkung gegenüber pathogenen Bakterien. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. 24.)
- 2) Jemma, Lavori del VII Congresso di Medicina interna. 21. ottobre 1896. p. 61.
- 3) Tizzoni, Guido, e Cattani, Giuseppina, Recherches sur le Choléra asiatique. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. III. 1888. p. 189.)

Nachdruck verboten.

Neue Lympheverreibungsmaschine.

(Für trokene und glyzerinierte Substanz.)

[Aus den wissenschaftlichen Laboratorien des Schweizer Serum- und Impfinstitutes (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle).]

Von Dr. E. Tomarkin,
Vorsteher der Vaccine-Abteilung.

Mit 7 Figuren im Text.

Wohl in allen Lymphgewinnungsanstalten wird gegenwärtig die Verreibung der glyzerinierten Lymphe auf maschinellm Wege bewerkstelligt. Es sind zu diesem Zwecke eine Reihe von Apparaten gebaut worden, die, wenn auch nach verschiedenen Prinzipien konstruiert, im wesentlichen gewissen gemeinsamen Anforderungen zu entsprechen suchen.

Die prinzipiellen Ansprüche, die an jede mechanische Vorrichtung zur Verreibung von Impfstoff gestellt werden müssen, können in folgenden Sätzen formuliert werden.

1) Der Impfstoff darf durch den Akt der Verreibung in seiner spezifischen Wirksamkeit keine Schädigung erleiden.

2) Die Apparate müssen leicht zu reinigen und zu sterilisieren sein.

3) Der mechanische Effekt der Apparate soll so bemessen sein, daß die Verreibung des Impfstoffes zu einer feinen, homogenen, gebrauchsfähigen Emulsion in möglichst kurzer Zeit sich vollzieht.

Neben diesen Momenten, die als wichtigste Direktiven bei der Konstruktion von Lympheverreibungsapparaten dienen müssen, kommen noch verschiedene andere Anforderungen in Betracht, wie z. B. die Einfachheit des Baues, die leichte Zerlegbarkeit in die einzelnen Teile usw., von deren Erfüllung der erreichte Grad der Vollkommenheit der Apparate abhängt.

In der Lymphbereitungspraxis sind bis jetzt bekannt geworden der Apparat von Döring, dem gewisse wesentliche Uebelstände, namentlich im Hinblick auf die Schwierigkeit einer exakten Sterilisierung, anhaften, der weitverbreitete Apparat von Chalybäus, der bei vorzüglicher Leistung nur mit bezug auf die Dauer, den der Akt der Verreibung erfordert, etwas zu wünschen übrig läßt, die nach einem ähnlichen mechanischen Prinzip konstruierte Lymphmühle von Felix, der Apparat von L. Pfeiffer und endlich die Paul-Csokorsche Lymphmühle, deren wesentlichster Vorteil in der Einfachheit der Konstruktion und der leichten Sterilisierbarkeit besteht und nicht zum mindesten in dem Aufbau des ganzen Apparates in allen jenen Teilen, die mit dem Impfstoff in Berührung kommen, aus Glas.

Bei dem Bau meiner Lymphmühle hat mich in der Hauptsache der Wunsch geleitet, einen Apparat zu konstruieren, der zunächst bei gesteigerter allgemeiner Leistungsfähigkeit die Vorreibung des Impfstoffes, die bei einzelnen der genannten Apparate sehr langwierig ist, in möglichst kurzer Zeit gestattet, und welcher zugleich für die Zermahlung von trockener Substanz, mit deren Herstellung das Institut vielfach beschäftigt ist, benutzt werden kann.

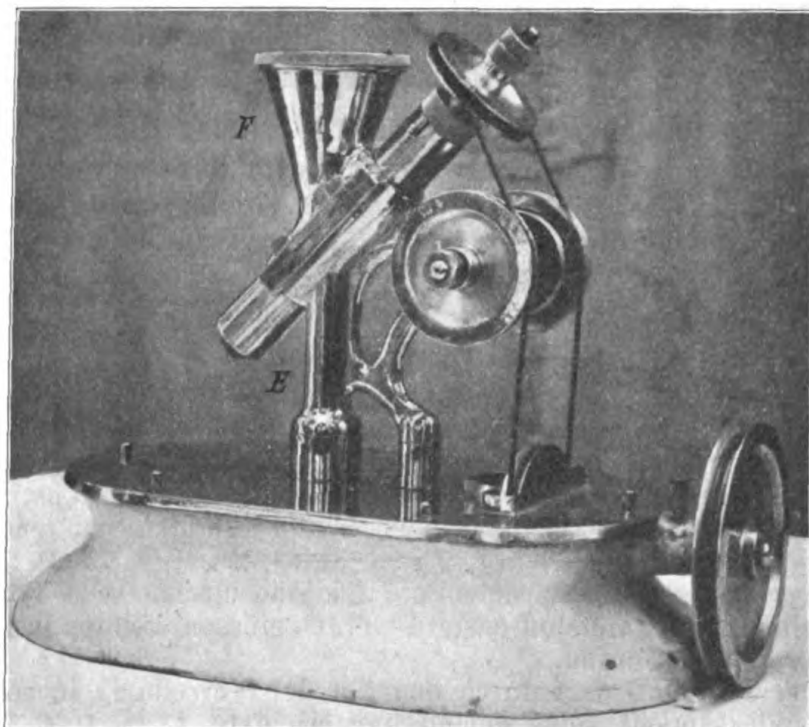


Fig. 1.

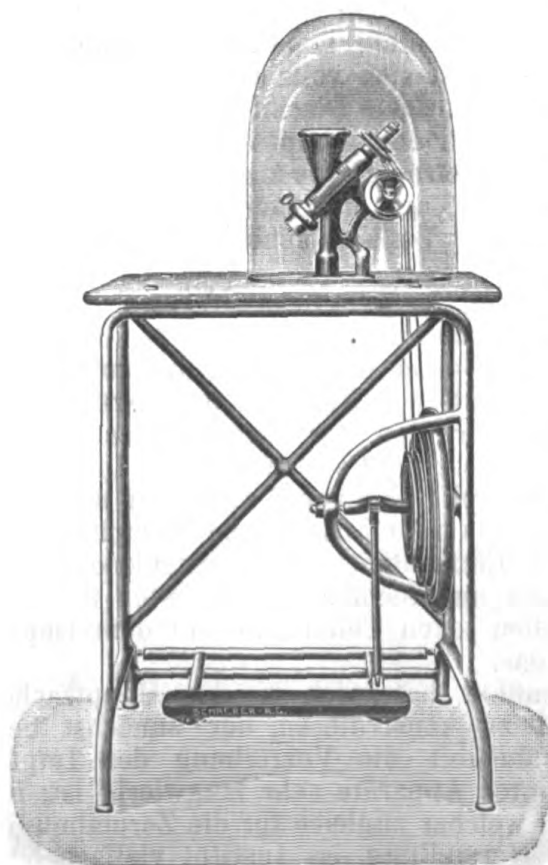


Fig. 1a.

Nach vielfachen Versuchen sind wir zu folgender Konstruktion gekommen, die nach unseren Erfahrungen den Anforderungen in jeder Beziehung entspricht.

Der Apparat (Fig. 1 u. 1a) besteht im wesentlichen aus dem Zerreibungsmechanismus (Fig. 2—5 für glyzerinierte Lymphe, Fig. 6 u. 7 für Trockensubstanz) mit den Antriebsrollen und dem Stativ mit den Leitrollen, welche letzterer entweder auf einem gußeisernen Sockel oder auf einen Tisch mit Marmorplatte montiert werden kann. Der Antrieb des Apparates geschieht vermittelst motorischer Kraft (Elektrizität oder Wasser) oder durch Fußbetrieb.

Der Zerreibungskörper für glyzerinierte Substanz ist nach dem System der Schraubmühlen gebaut und zerfällt, wie aus den Figuren ersichtlich, in eine massive konische zweistufige Schrauben-

welle 2 mit einem Glaskegel, einer Antriebsrolle und der Mikrometerbewegung und in eine hohle zylindrische Schraubenwelle 3 mit zum Teil durchbrochenen Schraubengängen und einer Antriebsrolle. Die massive Schraubenwelle 2 wird in die hohle Schraubenwelle 3 eingeschoben, so daß jede Welle für sich durch die zugehörige Antriebsrolle drehbar ist. Dieses Schraubensystem wird von zwei kongruenten zylindrischen Hülshenhälften 4 und 5, deren Hohlräume der äußeren Form des Systems genau angepaßt sind, umschlossen und sie bilden zusammen den eigentlichen Zermahlungskörper, der durch einen Spannring fest zusammengehalten wird.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

Die an der massiven Welle 2 angebrachte Mikrometerbewegung bewerkstelligt die Einstellung der Mahlgänge. Das Stativ trägt die Leitrollen und besteht aus 2 Teilen *E* und *F* (Fig. 1).

Der untere Teil *E* des Stativs ruht auf einer kleinen Grundplatte, und bildet mit dem Teil *F* eine zylindrisch ausgebohrte zweiteilige Hülse, die durch 4 Schrauben fixiert ist und zur Aufnahme des Mahlkörpers dient.

Der obere Teil *F* des Stativs erweitert sich zu einem Trichter, der etwa 200 ccm glyzerinierten Rohstoff faßt. Der Trichter mündet in einen Durchbruch der Hülse 5 des Zerreibungsmechanismus, der zwischen diesen beiden Teilen des Stativs verläuft.

Die Vorreibung des Rohstoffes in einer Quantität von ca. 200 ccm erfordert bei grober Einstellung der Mikrometerschraube ungefähr 10 Minuten, die zweite



Fig. 6.



Fig. 7.

feine Verreibung vollzieht sich in etwa 20—30 Minuten; 200 ccm glyzerinierte Lymphe werden also in 30—40 Minuten zu einer völlig feinen gebrauchsfähigen Emulsion verarbeitet.

Der Verreibung von trockener Substanz dient ein Schraubenzylinder 6 mit einem einzigen massiven Getriebe 7. Die Auswechselung ist leicht und rasch zu bewerkstelligen. Eine Vorreibung ist in diesem Falle nicht nötig.

In unserem Institute ist diese Lymphmühle seit mehr als einem Jahre in Tätigkeit und hat sich gut bewährt. Sie ist leicht zu reinigen, und der Mechanismus leidet nicht unter den Sterilisierungsmaßnahmen.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- Cano, U.**, La rage ab ingestis dans les souris, p. 29.
- Castellani, Aldo**, Observations on typhoid vaccination in man with attenuated live cultures, p. 92.
- Esch, P.**, Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus, p. 150.
- Fermi, Claudio**, Sur le traitement local de l'infection rabique par des substances lyssicides, la cautérisation, l'amputation et l'hyperémie à la Bier, p. 96.
- —, Nochmals über die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten, p. 99.
- Hadley, Philip B.**, Regarding the value of the Van Gieson and the Romanowsky malarial stains for the detection of Coccidia, p. 147.
- Kozewaloff, S.**, Zur Frage über die Struktur der sogenannten „Passagewutkörperchen“ von Lentz, p. 6.
- v. Linstow**, Davainea provincialis, p. 75.
- Mehlhose, Reinhold**, Ueber das Vorkommen von Bakterien in den Echinkokken und Cysticerken und ihre Bedeutung für das Absterben dieser Zooparasiten, p. 43.
- Mereshkowsky, S. S.**, Verfütterungsversuche an grauen Hausmäusen mit einem erneuerten Stamme des Zieseltyphusbacillus (*Bacillus typhi spermophilorum*), p. 1.
- —, Virulenz des erneuerten Stammes des Zieseltyphusbacillus (*Bacillus typhi spermophilorum*) bei subkutaner Injektion am Ziesel, p. 4.
- Miessner und Trapp**, Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehung zur Syphilisreaktion, p. 115.
- Noguchi, Hideyo**, Ueber die Einwirkung von Seifen auf die Lebensfähigkeit und immunisierende Eigenschaft des Tuberkelbacillus, p. 85.
- Pettersson, Alfred**, Antwort auf die Bemerkungen von Dr. Weil zu meiner Arbeit „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion des Meerschweinchens“, p. 114.
- Pollaci, G.**, Einige Modalitäten der Technik in der Ausführung der Wrightschen Agglutinationsreaktion, p. 108.
- Rodenwaldt, E.**, Trypanosoma Lewisi in Haematopinus spinulosus, p. 30.
- Schmidt, Otto**, Beiträge zur experimentellen Carcinomforschung, p. 11.
- Tomarkin, E.**, „Anios“. Ein neues Desinfektionsmittel, p. 104.
- —, Neue Lympheverreibungsmaschine. (Für trockene und glyzerinierte Substanz.), p. 157.
- Vincenzi, Livio**, Normale Cerebrospinalflüssigkeit als Nährboden für pathogene Bakterien, p. 154.
- Weichardt, Wolfgang**, Ueber Eiweißüberempfindlichkeit und Beeinflussung des Zellstoffwechsels, p. 77.

Nachdruck verboten.

Bericht über die Ergebnisse von Virulenzprüfungen an alten Peststämmen.

[Aus dem staatlichen Hygienischen Institut in Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar).
(Abteilungsvorsteher: Dr. H. Trautmann).]

Von Dr. Revenstorf,

Leiter der Medizinal-Untersuchungsstelle in Breslau (früherem Assistenten des Instituts).

Verschiedene Autoren haben bereits darauf hingewiesen, das gewisse Peststämme bei langdauernder Fortzucht auf künstlichen Nährböden manchmal eine plötzliche Abnahme oder einen völligen Verlust ihrer Virulenz erleiden, ohne daß sich eine Ursache für diese Veränderung nachweisen ließe. Andere gleich behandelte Stämme erlitten im Gegensatz hierzu in ihrer Virulenz keine Einbuße, auch wenn sie mehr als ein Jahr in dem gleichen Kulturröhrchen aufbewahrt wurden.

Das Interesse für die Faktoren, welche eine Abschwächung der Virulenz bewirken, ist vor allem geweckt worden durch die Mitteilungen von Strong über aktive Schutzimpfung gegen Pest. Strong führte, nachdem bereits andere Forscher ähnliche Versuche an Tieren gemacht hatten, als erster mit Erfolg Impfungen an Menschen mit lebenden, abgeschwächten Pesterregern aus. Unterliegt es doch nach den veröffentlichten Berichten keinem Zweifel, daß die mit abgetöteten Pesterregern hergestellten Sera wenig befriedigende Impfstoffe liefern, während lebende, abgeschwächte Kulturen höhere Immunitätsgrade schaffen.

Teils die Bedeutung, welche dem Besitz abgeschwächter Pestkulturen unter Umständen beizumessen ist, teils das Bestreben, auf Grund einer größeren Untersuchungsreihe einen Beitrag zur Lehre von der Virulenzabschwächung alter Laboratoriumstämmen zu liefern, waren der Anlaß, die im Hamburger Hygienischen Institut fortgezuchteten Peststämme auf ihre Virulenz zu prüfen. Für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dunbar meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Zu Beginn der Arbeiten standen mir für diese Untersuchungen 28 verschiedene Kulturen zur Verfügung. Zu ihnen kamen dann noch 2 neue Stämme, die erst nach Eintritt in die Untersuchungen isoliert wurden.

Alle diese Stämme waren bei sechswöchentlicher Ueberimpfung auf Serum fortgezuchtet und unter Watteverschluß im Eisschrank aufbewahrt worden.

Die Mehrzahl der Tierversuche wurde während der Monate Oktober bis Dezember 1908 ausgeführt, einige wenige im Januar und Februar 1909.

Die Kulturen sind im folgenden mit den Zeichen der vom Hygienischen Institut als pestverseucht erkannten Schiffe bezeichnet. Sie wurden mit einer Ausnahme, Wh., sämtlich aus verendeten Schiffsratten isoliert und stammen von Epidemien, die zum Teil recht weit auseinanderliegen und ihren Ursprung mit Ausnahme des Stammes Le. aus den Hafenstädten Südamerikas herleiten. Das Schiff Le. kam von Alexandrien.

Um zu einem Urteile über eine etwaige Virulenzveränderung zu gelangen, müßte man ausgehen von dem Grade der Virulenz jedes Stammes zur Zeit seiner Isolierung.

Ueber diese ursprüngliche Virulenz würde man ein gewisses Urteil gewinnen können aus dem Umfang der jeweiligen Schiffsrattenseuche und aus dem Ausfall der Impfungen von Versuchstieren, welch letztere, wie bekannt, bei der amtlichen Pestdiagnose vorgeschrieben sind. Für einen zutreffenden Schluß müßte nun mindestens aber Voraussetzung sein, daß einmal sämtliche zur Zeit des Ausbruchs der Seuche auf dem Schiffe befindlichen Ratten späterhin auch zur bakteriologischen Untersuchung kämen; und zum anderen, daß bei allen Impftieren abgewartet würde, ob bezw. bis sie an den einverleibten Pestbakterien zugrunde gingen. Leider können die hier zu behandelnden Fälle beiden Bedingungen nicht voll entsprechen. Denn es handelt sich in Hamburg um wichtige Ernstfälle, deren sichere Diagnose stets mit allen Mitteln beschleunigt werden muß. Daher werden gar nicht selten ein oder mehrere Impftiere vor dem natürlichen Ablauf der Infektion getötet. Für diese steht natürlich nicht immer fest, ob sie im anderen Falle die Infektion nicht vielleicht überwunden hätten. Dann auch kommt es, wie wir zuverlässig wissen, vor, daß ein Kapitän schon vor der Einfahrt in die Elbmündung sein Schiff von toten Ratten möglichst vorsäubern läßt. In solchen Fällen, die uns im einzelnen nicht immer bekannt werden, ist dann natürlich eine sichere Angabe über das Verhältnis der Gesamtrattenzahl zur Zahl der pestinfizierten bezw. an Pest verendeten Ratten nicht möglich. Immerhin sei hier bemerkt, daß für die Zahl der Pestratten an Bord eines Schiffes nicht allein die Menge der vorhandenen Ratten überhaupt von Bedeutung ist, sondern daß auch der Zeitpunkt in der Seuchenkurve und die Virulenz des jeweiligen Stammes eine Rolle spielen dürfte. Denn vermutlich werden die Rattenepidemien auf Schiffen in gleicher Weise einem periodischen Steigen und Nachlassen unterworfen sein, wie laut der Mitteilung der englisch-indischen Kommission die Rattenpest in Indien.

Um nun zu erfahren, ob und in welchem Grade während der Zeit der künstlichen Fortzucht eine Virulenzveränderung eingetreten war, wurde mit jedem Stamm eine bestimmte Anzahl von Meerschweinchen und Ratten geimpft. Die kutanen Impfungen von Ratten wurden im Laufe der Untersuchungen wegen ihrer unregelmäßigen Ergebnisse fortgelassen. Für alle Stämme wurden dagegen subkutane Impfungen der beiden ausgewählten Versuchstierarten durchgeführt. Schließlich wurde für einige wenige Stämme auch intraperitoneale Einverleibung bei Meerschweinchen ausgeführt. Ich schicke zunächst die allgemeine Versuchsanordnung voraus.

Zur Impfung der Tiere wurden 1-tägige Serumkulturen benutzt. Sämtliche Stämme lieferten auf Serum bereits nach 24 Stunden einen ziemlich reichlichen Rasen, der unter Einbeziehung des Kondenswasseranteils in ausreichender Menge Impfmateriale lieferte.

Von den verendeten Tieren wurden Ausstrichpräparate aus Drüsen, Leber, Milz und Lunge angefertigt; ferner Fleischwasseragar und Gelatineplatten mittels Organabstrichen beimpft. Die Feststellung der gefundenen Polstäbchen als Pest erfolgte auf Grund des charakteristischen morphologischen, kulturellen und biologischen Verhaltens unter Zuhilfenahme der Agglutinationsmethode.

Die Beobachtungszeit der Impftiere wurde auf 21 Tage nach der Infektion beschränkt.

Die überlebenden Tiere wurden nach der 3. Woche mit Chloroform getötet, die Organe bakteriologisch auf Anwesenheit von Pestkeimen untersucht.

Zu den Versuchen wurden anfänglich graue Ratten (Sielratten) benutzt, später zahme weiße.

Die Hälfte der Abschwemmung einer 24-stündigen Serumkulturabschwemmung wurde auf je 2 Versuchstiere, Ratten oder Meerschweinchen, zunächst derart verteilt, daß das erste Tier $\frac{1}{2}$, das zweite $\frac{1}{2}$, der vorhandenen Injektionsflüssigkeit subkutan erhielt.

Ergebnisse.

Subkutane Impfung von Ratten (vgl. Tab. I).

Die Zahl der auf Rattenpathogenität geprüften Stämme betrug 28, die Zahl der Versuchstiere 58.

Von diesen 58 Impfratten starben 46 an Pest = 79,3 Proz. Der Tod der Tiere erfolgte durchschnittlich am 3. Tage nach der Infektion.

Es kann vorausgeschickt werden, daß keins der überlebenden und am 21. Tage abgetöteten Tiere pathologisch-anatomische Veränderungen bot, welche auf Pest hindeuten. Insbesondere waren in allen Fällen die Drüsen klein, die Subcutis blaß, Leber und Lunge frei von makroskopisch sichtbaren Herden. Milztumor fehlte. Weder in den Organen, noch an der Impfstelle fanden sich polgefärbte Bakterien. Auf der Platte erfolgte entweder kein Wachstum oder es entwickelten sich unverdächtige Kolonien.

20 Stämme nun töteten beide Versuchsratten. Dazu gehörten die 3 ältesten Stämme aus den Jahren 1903 und 1904. Die Tiere starben am 2., 3., 4. und 5. Tage, durchschnittlich nach 2,95 Tagen an Pest.

Die mit der geringeren Dosis geimpften Tiere starben im Durchschnitt etwas später als die mit der höheren Dosis injizierten Tiere (2,75), nämlich nach 3,15 Tagen. Im einzelnen starben von den mit der höheren Dosis geimpften Tieren 8 nach 2 Tagen, 12 nach 3 Tagen, 3 nach 4 Tagen; von den mit der geringeren Dosis geimpften Tieren 2 nach 2 Tagen, 13 nach 3 Tagen, 5 nach 4 Tagen.

In 6 Fällen starben beide Tiere am gleichen Tage, 1mal am 2., 5mal am 3. Tage. In 10 Fällen starb das mit der kleineren Dosis geimpfte Tier einen Tag später als das andere, und zwar 6mal am 3., 4mal am 4. Tage. In einem Falle starb das zweite Versuchstier 2 Tage später als das andere. In 3 Fällen starb die mit der kleineren Dosis geimpfte Ratte eher als die andere, und zwar in 2 Fällen einen Tag eher, am 3. Versuchstage und in einem Falle 2 Tage eher, am 2. Versuchstage.

5 Stämme töteten nur je eine Versuchsratte, während die andere überlebte. Die geringere Rattenpathogenität der Stämme Du. und Ca. scheint in dem längeren Leben der Ratten zum Ausdruck zu gelangen. Indes darf nicht außer acht gelassen werden, daß die Krankheitsdauer ein unsicherer Faktor ist. Das ergibt sich deutlich daraus, daß auch die schwachvirulente Kultur As. I eine Ratte schon in einem Tage zu töten vermochte. Es verdient ferner hervorgehoben zu werden, daß in Ueberlebungsfällen es stets das zweite Versuchstier war, die mit der geringeren Dosis geimpfte Ratte, welche durchkam.

3 Stämme vermochten überhaupt keine der beiden Versuchsratten zu töten. Vergleiche ich die Ergebnisse unserer neuerlichen Impfversuche mit der Virulenz der betreffenden Kulturen zur Zeit ihrer Isolierung (vgl. Tab. III), so erwiesen sich, soweit man aus der geringen Zahl von Versuchstieren überhaupt Schlüsse ziehen darf, 3 Stämme: Ne., Ar., De. als nicht mehr rattenpathogen, während 5 Stämme: Du., C⁰, S. A., As. I, Ca., in ihrer Virulenz geschwächt waren. Von den letzteren stammten je 2 aus dem Jahre 1905 und 1907, eine aus dem Jahre 1908.

Es sind somit keineswegs die ältesten Stämme, welche in ihrer Virulenz Einbuße litten. Die 3 Stämme der Jahre 1903 und 1904, We., Bl., und Bi., hatten ihre pathogene Eigenschaft für Ratten bei subkutaner Anwendung voll bewahrt. Von den avirulenten Stämmen rührte die Kultur De. aus dem Jahre 1905, die Kultur Ar. aus dem Jahre 1906. Sehr merkwürdig ist, daß auch ein Stamm des Jahres 1908, Ne., seine Rattenpathogenität verloren hatte, trotzdem die Prüfung dieses Stammes knapp 5 Monate nach seiner Gewinnung durchgeführt wurde und der Stamm sich zur Zeit seiner Gewinnung sowohl für Schiffsratten als auch für die Laboratoriumversuchstiere vollvirulent erwies. Der Stamm hatte aber seine Virulenz, wie wir sehen werden, nur für Ratten, nicht aber für Meer-schweinchen eingeblüht.

Tabelle I.
Rattenimpfungen.
Menge der an je 1 Ratte verimpften 24-stündigen Serumkultur.

Stamm isoliert im Jahre	Name des Stammes	subkutan		kutan	
		$\frac{3}{8}$ Kultur Tot nach ...Tagen	$\frac{1}{8}$ Kultur Tot nach ...Tagen	Spur Tot nach ...Tagen	Spur Tot nach ...Tagen
1908	Re.	2	2	1*	—
"	C. R.	3	3	—	9
"	Ne.	—	—	—	—
"	Du.	5	—	3	5
"	S. F.	4	3	4	—
"	Mi.	3	3	—	—
"	Cl.	3	3	4	15*
"	Gr.	3	3	—	6
1907	Hy. I	2	3	.	.
"	Co.	3	—	.	.
"	Le.	2	3	.	.
"	Wh.	2	3	.	.
"	Eb.	3	4	.	.
"	Hy. II	2	3	.	.
"	Wi.	3	4	.	.
"	S. A.	3	—	.	.
"	As. II	2	3	.	.
"	Cor.	3	4	.	.
"	S. L.	4	3	.	.
1906	Sa.	3	4	.	.
"	Ar.	—	—	.	.
1905	De.	—	—	.	.
"	Hyl.	2	3	.	.
"	As. I	3	—	.	.
"	"	1	—	.	.
"	Ca.	5	—	.	.
1904	Bi.	2	4	.	.
"	Bl.	3	3	.	.
1903	We.	4	2	.	.

Zeichenerklärung: — Ueberleben der Tiere. * Tot infolge anderweitiger Erkrankungen ohne Pestbefund.

Kutane Impfungen von Ratten (vgl. Tab. I).

Zu diesen Versuchen wurden 8 Stämme des Jahres 1908 herangezogen. Von den geimpften 16 Ratten starben 6 an Pest. Von den übrigen 10 starb eine Ratte, eine wilde, am 1. Tage infolge eines nicht bemerkten, offenbar vor der Einlieferung ins Institut erlittenen

Brusttraumas. Eine andere verendete am 15. Tage ohne Pest. Die übrigen 8 überlebten. Oder, nach den Stämmen geordnet: ein Stamm Du. tötete beide Ratten, 4 Stämme töteten je eine Ratte, 3, darunter auch die Kultur Ne., töteten keine Ratte. Die mit Pest erkrankten Tiere starben nach etwas längerer Zeit als bei subkutaner Impfung, zwischen dem 3. und 9. Tage, durchschnittlich nach 5,17 Tagen.

Wegen der unsicheren Schlußfolgerungen, die aus den Ergebnissen kutaner Impfungen bei Ratten in bezug auf Virulenz der Stämme zu ziehen sind, wurde diese Impfmethode nicht weiter fortgesetzt.

Tabelle II.

Meerschweinchenimpfungen.

Menge der an je 1 Meerschweinchen verimpften 24-stündigen Serumkultur.

subkutan							
Stamm isoliert im Jahre	Name des Stammes	$\frac{1}{8}$ Kultur Tot nach ... Tagen	$\frac{1}{4}$ Kultur Tot nach ... Tagen	1 Oese Tot nach ... Tagen	$\frac{1}{10}$ Oese Tot nach ... Tagen	$\frac{1}{100}$ Oese Tot nach ... Tagen	$\frac{1}{1000}$ Oese Tot nach ... Tagen
1908	Re.	2	3	5	3	5	5
"	C. R.	4	6	5	5	5	5
"	Ne.	6	8	4	4	4	6
"	Du.	4	4	4	2	4	4
"	S. F.	3	3	4	4	5	5
"	Mi.	6	2	7	6	5	5
"	Cl.	5	5	5	4	5	6
"	Gr.	6	7	5	3	6	6
"	Qu.	.	.	5	4	6	6
"	New.	.	.	3	6	9	7
1907	Hy. I	5	5	2	6	4	5
"	Co.	4	6	4	3	4	5
"	La.	5	7	3	6	4	6
"	Wh.	4	7	2	3	4	8
"	Eb.	5	5	.	.	2*	3
"	Hy. II	7	4	.	.	.	3
"	Wi.	5	5	.	.	.	6
"	S. A.	4	2	.	.	4	5
"	As. II	4	5	.	.	5	3
"	Cor.	6	4	.	.	7	4
"	S. L.	5	5	.	.	5	4*
1906	Se.	4	3	.	.	5	4
"	Ar.	6	6	.	.	5	8
1905	De.	29*	—
"	"	12	—
"	Hyl.	5	6	.	.	5	6
"	As. I	—	—
"	"	17*	—
"	Ca.	6	5	.	.	6	5
1904	Bl.	6	4	.	.	7	7
"	Bl.	8	4	.	.	5	6
1903	We.	4	5	.	.	5	5

intraperitoneal

Stamm isoliert im Jahre	Name des Stammes	Tot nach ... Tagen	Tot nach ... Tagen
1905	De.	6	1
"	As. I	6	4*

Zeichenerklärung: — Ueberleben der Tiere. * Tot infolge anderweitiger Erkrankung.

Subkutane Impfungen von Meerschweinchen (vgl. Tab. II).

Für subkutane Impfungen wurden 152 Meerschweinchen verbraucht, von denen in der Tabelle 146 erscheinen. Die hohe Zahl erklärt sich daraus, daß zunächst große Dosen, nämlich wie bei den Ratten, die Hälfte einer Serunkulturabschwemmung auf je 2 Meerschweinchen verimpft wurden. Ich war hierbei eben von der Vermutung ausgegangen, die sich in der Folge als irrig erwies, daß eine größere Anzahl von Stämmen durch die lange Fortzüchtung auf künstlichem Nährboden ihre Virulenz verloren hätte.

Aus der Tabelle II ergibt sich, daß nicht nur die jüngeren, sondern auch die ältesten Stämme mit wenigen Ausnahmen noch in einer Menge von $\frac{1}{1000}$ Oese Meerschweinchen töteten. Von 3 aus äußeren Gründen in der Tabelle nicht angeführten Stämmen, Cl., Gr., Qu., tötete noch eine Dosis von $\frac{1}{10000}$ Oese, von einem Stamm, Ne., selbst noch eine Menge von $\frac{1}{10}$ Mill. Oese. Diese Angaben bedeuten nicht Grenzwerte. Denn die Versuche wurden in keinem Falle bis zur Ermittlung der minimalen tödlichen Dosis fortgesetzt. Für den Zweck der vorliegenden

Tabelle III.
Originalimpftiere.

Gewinnungsjahr	Name	I. Subkutan geimpfte Tiere von							
		je 4 Ratten				je 1 Meerschweinchen			
		spontan mit Pest- befund	gestorben ohne Pest- befund	abgetötet mit Pest- befund	abgetötet ohne Pest- befund	spontan mit Pest- befund	gestorben ohne Pest- befund	abgetötet mit Pest- befund	abgetötet ohne Pest- befund
1908	Re.	2	2	.	.	1	.	.	.
"	C. R.	3	.	.	1	1	.	.	.
"	Ne.	4	1	.	.
"	Du.	3	1	.	.	.	1	.	.
"	S. F.	2	2	.	.	1	.	.	.
"	Mi.	3	1	.	.	1	.	.	.
"	Cl.	3	1	.	.	1	.	.	.
"	Gr.	3	1	.	.	1	.	.	.
"	Qu.	2	2	.	.	.	1	.	.
"	New.	4	.	.	.	1	.	.	.
1907	Hy. I	4	1	.	.
"	Co.	1	1	2	.	1	.	.	.
"	Le.	4	.	.	.	1	1	.	.
"	Wh.	.	.	1	3	1	1	.	.
"	Eb.	.	3	1	1
"	Hy. II	1	1	.	2	.	.	.	1
"	Wi.	1	2	.	1	1	.	.	1
"	S. A.	2	2	.	.	1	.	.	.
"	As. II	2	1	1
"	Cor.	3	1	.	.	.	1	.	.
"	S. L.	3	1	.	.	1	.	.	.
1906	Se.	2	.	2	.	1	.	.	.
"	Ar.	3	.	1	.	1	.	.	.
1905	De.	4	.	.	.	1	.	.	.
"	Hyl.	3	.	1	.	1	.	.	.
"	As. I	1	1	.	2	.	.	.	1
"	Ca.	1	.	3	.	1	.	.	.
1904	Bl.	4	.	.	.	1	.	.	.
"	Bl.	4	.	.	.	1	.	.	.
1903	We.	3	.	1

Gewinnungsjahr	Name	II. Kutan geimpfte Tiere von							
		je 1 Ratte				je 2—3 Meerschweinchen			
		spontan mit Pest- befund	gestorben ohne Pest- befund	abgetötet mit Pest- befund	abgetötet ohne Pest- befund	spontan mit Pest- befund	gestorben ohne Pest- befund	abgetötet mit Pest- befund	abgetötet ohne Pest- befund
1908	Re.	.	.	.	—	1	1	.	.
"	C. R.	.	1	.	.	2	.	.	.
"	Ne.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Du.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	S. F.	.	1	.	.	2	.	.	.
"	Mi.	.	.	.	—	2	.	.	.
"	Cl.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Gr.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Qu.	.	1	.	.	2	.	.	.
"	New.	.	.	.	—	2	.	.	.
1907	Hy. I	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Co.	.	.	.	1	1	.	.	.
"	Le.	1	1	.	.
"	Wh.	.	.	.	1	.	.	.	1
"	Eb.	.	.	.	1	2	.	.	.
"	Hy. II	.	1	.	.	.	1	.	1
"	Wi.	.	1	.	.	1	.	.	.
"	S. A.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	As. II	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Cor.	.	.	.	—	1	1	.	.
"	S. L.	1	.	.	.	2	.	.	.
1906	Se.	.	.	.	1	1	1	.	.
"	Ar.	.	.	.	1	1	.	.	—
1905	De.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Hyl.	.	.	.	—	1	.	.	—
"	As. I	.	.	.	1	.	1	.	—
"	Ca.	.	.	1	.	2	.	.	.
1904	Bi.	1	.	.	.	2	.	.	.
"	Bl.	.	.	.	—	2	.	.	.
1903	We.	1	.	.	.	3	.	.	.

Zeichenerklärung: — Ueberleben der Tiere.

Untersuchungen genügte es zu wissen, daß die sehr kleine Menge der in einem Bruchteil einer Oese ($\frac{1}{1000}$) vorhandenen Kulturmasse Meerschweinchen mit Pest tötete.

Wenn man nach Kolle und Martini eine Kultur als vollvirulent bezeichnet, welche Meerschweinchen in 4—5 Tagen tötet, so darf man, wenn auch einzelne Versuchstiere erst am 6.—9. Tage starben, sagen, daß die meisten Stämme in ihrer Virulenz kaum beeinträchtigt waren.

In ihrer Pathogenität erheblich geschädigt erwiesen sich nur zwei Kulturen, As. I und De., die beide im Jahre 1905 gewonnen wurden. Der Stamm As. I bewirkte bei den geimpften 4 Meerschweinchen überhaupt keine Pestinfektion. 3 Tiere überlebten, eins starb am 17. Tage ohne Pestbefund. Der Stamm De. tötete ein Meerschweinchen am 12. Tage mit Pest, ein zweites Meerschweinchen starb am 29. Tage ohne Pest. 2 Meerschweinchen überlebten. Vergleichen wir diese Feststellung mit der in Tabelle I angegebenen Pathogenität für Ratten, so ergibt sich, daß beide Kulturen wie für Meerschweinchen auch für Ratten nicht mehr vollvirulent waren. Der Stamm De. tötete keine Ratte, der Stamm As. I in zwei Parallelversuchen je eine Ratte.

Nur in zwei Fällen starb ein Meerschweinchen ohne Pestbefund, das mit einer sonst virulenten Kultur geimpft war — Eb., S. L. Mit Pest starben insgesamt 150 Meerschweinchen = 98,6 Proz.

Von Kolle ist darauf hingewiesen worden, daß die spontane Virulenzherabsetzung nur zu einer mäßigen Einbuße an Pathogenität führt. Namentlich für Meerschweinchen bewahren selbst alte Kulturen, die Ratten nicht mehr töten, ihre pathogene Wirkung. Ein solcher Stamm ist nach unseren Untersuchungen die Kultur Ar. Ferner die Kultur Ne., welche auffallenderweise schon $\frac{1}{2}$ Jahr nach ihrer Gewinnung keine Rattenpathogenität mehr besaß (wenn man aus zwei Versuchen diesen Schluß ziehen darf).

Im Gegensatz hierzu scheint ausnahmsweise auch einmal eine elektive spontane Abschwächung der Pathogenität für Meerschweinchen vorzukommen. Ein solches Beispiel liefert der Stamm As. I, welcher von 4 Ratten 2 mit Pest tötete, sich aber für Meerschweinchen als avirulent erwies.

In den Mitteilungen von Kolle, Hetsch und Otto wird von alten Laboratoriumkulturen berichtet, die von Prof. Bitter in Kairo stammten und nahezu jede Pathogenität für Meerschweinchen verloren hatten. Die Stämme erwiesen sich auch in bezug auf Agglutinationswirkung gegenüber dem spezifischen Pestserum so atypisch, daß es der Immunisierungsversuche an Meerschweinchen und Ratten bedurfte, um mit voller Sicherheit ihre Natur als Pestkulturen zu erkennen. Vergleichen wir mit dieser Angabe das Verhalten unserer beiden abgeschwächten Kulturen, so ließ sich feststellen, daß sowohl die Originalstämme, wie auch die aus Meerschweinchen gewonnenen Kulturen durch spezifisches Serum prompt und in gleicher Weise agglutiniert wurden, wie die übrigen Stämme.

Intraperitoneale Impfungen von Meerschweinchen (vgl. Tabelle II).

Zur weiteren Prüfung der in ihrer Virulenz erheblich abgeschwächten Stämme De. und As. I wurden je 2 Meerschweinchen intraperitoneal geimpft. Die mit Stamm De. infizierten Tiere starben nach 1 bzw. 6 Tagen an Pest. Von den mit Stamm As. I infizierten Tieren starb das eine nach 6 Tagen mit Pest, das andere nach 4 Tagen ohne Pest.

Bei allen 3 an Pest verendeten Tieren fehlten die von Kolle, Albrecht und Ghon beschriebenen, nach intraperitonealer Einverleibung schwach virulenter Kulturen auftretenden Veränderungen, nämlich die geschwulstartigen Auflagerungen im Netz, an der Leber, an der Milzoberfläche und im Peritoneum. Der Bauchfellüberzug des Magens, des Darms, der Milz und Leber war mit einem fadenziehenden, schleimigen, weißen Exsudat bedeckt, das wir auch bei intraperitonealer Verimpfung virulenter Stämme zu finden gewohnt sind.

* * *

Teils zufällige Befunde, teils hierauf gerichtete Untersuchungen ergaben, daß die Virulenz einzelner Kulturen manchmal erstaunlich lange erhalten bleibt. Eine 2 Jahre lang im zugeschmolzenen Glasrohr aufbewahrte Kultur des Gesundheitsamtes erwies sich in ihrer Virulenz kaum geschwächt, während eine von dem gleichen Stamme herrührende fortgezüchtete Abimpfung avirulent geworden war. In einer 7 und in einer $8\frac{1}{2}$ Monate alten, lediglich unter Watteverschluß aufbewahrten, teilweise eingetrockneten und größtenteils von Schimmelpilzen über-

wucherten Agarkultur, die 3 Monate bei ca. 25°, später bei 20° aufbewahrt worden war, fand Gotschlich lebende und virulente Pestbakterien. Unter den von Kolle, Hetsch und Otto bei ihren umfangreichen Versuchen verwendeten Kulturen fanden sich Stämme von ansehnlichem Alter.

Schon im Jahre 1899 vertrat Pfeiffer die Ansicht, daß die Virulenz der Pestbakterien keineswegs eine so labile Größe ist, wie man gewöhnlich annimmt. Unsere Versuche, die hiermit übereinstimmen, bestätigen ferner die Angaben von Maassen, Kolle, Strong u. a., daß die Virulenz von Kulturen, welche vor Licht geschützt sind und bei niedriger Temperatur aufbewahrt werden, oft recht lange erhalten bleibt. Die Kulturen einzuschmelzen, scheint hierfür nicht erforderlich zu sein. Wohl aber ist der Vorschlag von Loeffler, die Ueberimpfung auf Serum vorzunehmen, beachtenswert.

Niedrigere Temperaturen als 41° bzw. 36° haben eine Virulenzabschwächung anscheinend nicht mehr zur Folge. Aus einer Mitteilung von De Haan ergibt sich, daß eine Agarkultur, die bei Zimmertemperatur von 30—32° C auf dem Laboratoriumstisch 4 Jahre und 8 Monate aufbewahrt wurde, ihre Pathogenität für Mäuse nicht verloren hatte.

Unter den Methoden zur künstlichen Abschwächung der Virulenz hat sich die Anwendung von Karbolzusatz und von Temperaturen um 51° als untauglich erwiesen. Inghilleri erreicht eine Virulenzabnahme durch Uebertragung in immer verdünntere Mischungen von Bouillon und sterilisiertem Leitungswasser. Durch Züchtung von Pestkulturen bei 41° bis 43° wird die Virulenz rasch herabgesetzt. Kombiniert man diese Verfahren nach Hetsch mit der Kultivierung in Nährbouillon, welcher Alkohol in einer Menge von 0,5—5 Proz. zugesetzt ist, so büßen die Pestkulturen im Laufe weniger Monate ihre Virulenz so weit ein, daß sie für Meerschweinchen annähernd apathogen sind. Nach Hetschs Vorgang hat auch Strong bei seinen wertvollen Immunisierungsversuchen mit einer alten Manilakultur, die 3 Jahre lang ununterbrochen auf künstlichem Nährboden gezüchtet war, sich veranlaßt gesehen, die Virulenz dieser Kultur noch weiter herabzusetzen durch Züchtung in Alkoholnährbouillon bei 41—43°.

Als Indikator benutzte Strong das Meerschweinchen. Stämme des Pestbacillus, welche bei subkutaner Einverleibung Meerschweinchen in einer Dosis von zwei Agarkulturen nicht mehr zu töten vermögen, dürfen nach seiner Meinung als hinreichend abgeschwächt auch zur Verwendung beim Menschen zugelassen werden.

Unter unseren 28 Stämmen dürfte die Strongsche Forderung höchstens ein Stamm erfüllen, As. I, der auf 4 Meerschweinchen subkutan verimpft wurde, ohne eine Pestinfektion zu erzeugen. Aber, wie bereits erwähnt, vermochte der Stamm trotz vorhandener Meerschweinchenapathogenität Ratten zu töten. Denn von den 4 mit der Kultur As. I geimpften Ratten starben noch 2 an Pest. Hiernach möchte ich zur Erwägung stellen, ob man nicht bei allgemeiner Annahme des von Strong beschrittenen Weges einer Immunisierung des Menschen die Pathogenität der Kultur außer an Meerschweinchen auch an Ratten prüfen sollte. Dabei will ich nicht die große Bedeutung der ausgedehnten praktischen Erfahrungen verkennen, welche Strong zu sammeln in der Lage war, und welche ihm gleichwohl in der Beschränkung seiner Forderungen recht zu geben scheinen.

Als wichtigste Ergebnisse meiner Arbeit nenne ich:

1) Im allgemeinen verlieren Pestkulturen ihre Pathogenität leichter für Ratten als für Meerschweinchen. Es läßt sich aber keine Gesetzmäßigkeit erkennen zwischen diesem Verlust und der Züchtungsdauer der Stämme auf künstlichen Nährböden.

2) Es gibt auch Peststämme, die bei subkutaner Einverleibung für Meerschweinchen apathogen sind, während sie Ratten auf diese Weise noch zu töten vermögen.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen von Typhusbacillen in von Typhusbacillenträgern benutzten Abortgruben.

[Aus der Kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Idar; Leiter:
Dr. Neumann.]

Von Dr. Mosebach, Assistenten der Anstalt.

Bei der künstlichen Infektion von Abortgruben mit geringen Mengen Typhusbacillen bereitete das Wiederauffinden derselben in allen Schichten des Grubeninhaltes keinerlei Schwierigkeiten. Wurde z. B. eine Grube, die 500 Liter Urin-Fäkaliengemisch enthielt, mit 200 ccm einer wäßrigen Abschwemmung 24-stündiger Typhusagarkulturen beschickt, so konnten die Typhusbacillen auf dem Drigalski-Conradischen Lackmusagar mit Leichtigkeit nachgewiesen werden. Veranlaßt durch diese Beobachtung sowie von der Erwägung ausgehend, daß manche Bacillenträger mit einer Stuhlentleerung oft außerordentlich große Mengen Typhusbacillen ausscheiden, habe ich eine Reihe von Abortgruben, die von Typhusbacillenträgern benutzt werden, einer bakteriologischen Untersuchung unterworfen. Mittels eines von der Firma Lautenschläger gelieferten, durch Auskochen sterilisierbaren Entnahmeapparates, der im wesentlichen aus zwei ineinander verschiebbaren Messingröhren besteht, wurden aus verschiedenen Schichten der zu prüfenden Abortgruben Proben entnommen, je nach dem Füllungszustande der Grube von der Oberfläche, aus der Mitte und aus der Tiefe. Der Entnahmeapparat wurde vor und nach dem Gebrauch im Dampftopf sterilisiert.

Sofort nach der Entnahme wurden die in sterilisierte Glasgefäße eingefüllten Proben im Laboratorium verarbeitet. Als Nährböden dienten der Malachitgrünagar nach Lentz-Tietz, der Drigalski-Conradische blaue Lackmusagar, sowie der Brillantgrün-Pikrinsäureagar Conradis. Von den Proben wurden 2—3 Tropfen — dickbreiiger Inhalt wurde mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt — mit einem rechtwinklig gebogenen ausgeglühten Glasstabe zuerst auf Malachitgrünagar, dann mit demselben Glasstabe weiter auf 2 großen blauen Lackmusagarplatten verarbeitet, endlich noch ein Tropfen auf einer mit Brillantgrün-Pikrinsäureagar beschickten großen Doppelschale verrieben. Die Platten wurden 18—24 Stunden bei 37° gehalten. Verdächtige Kolonien wurden in einer Typhus- bzw. Paratyphusserumverdünnung von 1:100 auf ihre Agglutinierbarkeit geprüft, und dabei die von Conrad¹⁾ angegebene

1) Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 29.

Kontrolle der Verreibbarkeit in einem Tropfen sterilisierter Rindergalle berücksichtigt. Handelte es sich um bewegliche agglutinierende Stäbchen, so wurde ihr Verhalten in Lackmusmolke und Traubenzuckerbouillon geprüft und mit dem zur Verfügung stehenden Serum die Höhe des Endtiters bestimmt. Es wurden im Monat Juli 1909 4 von Typhus- und 2 von Paratyphusträgern benutzte Abortgruben untersucht. Die Ergebnisse seien im folgenden mitgeteilt:

1) Frau M., 58 J., Typhusbacillenträgerin, in Idar. Sie wurde gelegentlich einer Paratyphuserkrankung ihres Sohnes als Typhusträgerin ermittelt. Sie hat vor 30 Jahren Typhus durchgemacht und leidet seit 10 Jahren an Gallensteinkoliken.

Aus der vorschriftsmäßig hergerichteten Abortgrube, die die Abgänge von 6 Personen aufnimmt, konnten in je 2 Proben von der Oberfläche und Tiefe weder Typhus- noch Paratyphuserreger nachgewiesen werden.

2) Frau Br., 44 J. alt, wohnhaft in Oberstein. War 1896 typhuskrank und wurde im Dezember 1903 von der Untersuchungsanstalt als Typhusträgerin ermittelt. Sowohl in ihrer Familie als auch in ihrem Hause wie in ihrer Nachbarschaft sind wiederholt Typhuserkrankungen aufgetreten. Der letzte von der Untersuchungsanstalt festgestellte Fall betraf im August 1907 das 6-jährige Töchterchen der Familie K., die 8 Wochen vor Ausbruch der Erkrankung des Kindes eine Wohnung im Hause der Frau B. bezogen hatte. Bei der letzten Untersuchung der B. am 10. August 09 wurden im Stuhl noch reichlich Typhusbacillen nachgewiesen.

Die Abortanlage ist äußerst mangelhaft und unsauber. Als Abortgrube dient ein kaum 50 cm tiefes in den Fels gehauenes Loch, das mit Brettern lose abgedeckt ist. Dieses Loch ist mit dünnflüssiger Jauche gefüllt, während die festeren Kotmassen von einem schräg über die Grube gelegten Brett aufgefangen werden. Von der Jauche werden aus der Tiefe und von der Oberfläche je 2 Proben entnommen. Die Abortgrube nimmt zurzeit nur die Abgänge der Bacillenträgerin und ihres Ehemannes auf. In den von der Oberfläche stammenden Proben lassen sich Typhusbacillen nachweisen. Auf einer blauen Drigalski-Conradschen Agarplatte finden sich 3 Typhuskolonien. Coli ist sehr spärlich gewachsen.

3) Frau T. in Oberstein, 42 J. alt. Hat nach einem im Februar 1904 überstandenen Typhus bis zum Mai 1905 im Stuhl Typhusbacillen ausgeschieden. Von Mai 1905 ab hat sie dauernd die Abgabe von Stuhl- und Urinproben verweigert.

Die vorschriftsmäßig angelegte Abortgrube wird von 16 Personen benutzt. Der Grubeninhalt besteht aus dünnflüssiger Jauche, an der Oberfläche von einer festen dickbreiigen Masse bedeckt. 3 Proben werden entnommen, je eine von der Oberfläche, aus der Mitte und Tiefe. In der letzteren finden sich Typhusbacillen, und zwar ist nach 18 Stunden auf dem Drigalskischen Lackmusagar eine Typhuskolonie gewachsen. Nach 24 Stunden sind auch auf dem Brillantgrün-Pikrinsäureagar mehrere Typhuskolonien zur Entwicklung gekommen.

4) Albert C., 15 J., Oberstein. War Dezember 1903 an Paratyphus erkrankt, hat als kleines Kind an Gelbsucht gelitten. Wurde am 7. März 1904 von der Untersuchungsanstalt als Paratyphusbacillenträger ermittelt. Hat von da an in 9 bis zum Januar 1907 durchgeführten Kontrolluntersuchungen im Stuhl regelmäßig Paratyphusbacillen ausgeschieden. Verweigerte vom Januar 1907 an die Abgabe von Material.

Die von dem Bacillenträger und 22 weiteren Hausbewohnern benutzte Abortgrube ist mangelhaft ausgemauert und mit Brettern notdürftig abgedeckt. Da die Grube erst kurze Zeit vor der Untersuchung entleert worden ist, findet sich ihr Boden mit einer kaum 10 cm hohen Schicht einer breiigen Fäkalmasse bedeckt, von deren Oberfläche und Tiefe je eine Probe entnommen wird. Nach 18-stündigem Wachstum bei 37° sind auf dem Malachitgrünagar nach Lentz-Tietz und nach 24 Stunden auch auf dem Brillantgrünagar Conradis Paratyphuskolonien in großer Anzahl nachzuweisen. Auf dem Lackmus-Nutroseagar werden keine gefunden.

5) Frau Sp., 45 J. alt, in Oberstein. War im August 1899 typhuskrank. Bei einer Nachuntersuchung im März 1904 wurden bei ihr Typhusbacillen im Stuhl gefunden. In 7 weiteren bis zum Dezember 1907 durchgeführten Untersuchungen wurden jedesmal Typhusbacillen nachgewiesen.

Die musterhaft angelegte 1½ m tiefe Abortgrube nimmt außer den Abgängen von 12 Hausbewohnern auch noch Hausabwässer auf. Sie wird beinahe ganz gefüllt angetroffen. Die Oberfläche ist von einer ungefähr faustdicken Kotmasse bedeckt, darunter befindet sich dünnflüssiger jauchiger Inhalt. Von der Oberfläche, aus der Mitte und Tiefe werden Proben entnommen. Nach 24-stündigem Wachstum bei 37° sind sowohl auf dem Lackmus-Nutrose- wie auch auf dem Brillantgrün-Pikrinsäureagar in allen 3 Proben reichlich Typhusbacillen nachzuweisen. Auf den blauen Drigalski-Platten verhält sich die Anzahl der Typhuskolonien zu den rot wachsenden wie 1:5.

6) Karoline B., 17 J., in Idar. Es wurden bei ihr gelegentlich einer Paratyphuserkrankung ihres Bruders im Januar 1906 im Stuhl Paratyphusbacillen gefunden. Bis Dezember 1906 wurden noch 11 Stuhl- und Urinproben von ihr untersucht, 5 Stuhlproben waren positiv, 6 negativ, der letzte positive Befund war am 28. Dez. 1906. Bis Januar 1908 verweigerte sie die Abgabe von Material, dann sandte sie wieder Proben ein, die aber negativ waren. Sie wurde am 1. Juni 1908 aus der Beobachtung der Station entlassen. Da an der Echtheit des eingesandten Materials Zweifel bestanden, wurde die von der B. benutzte Abortgrube auf Paratyphusbacillen untersucht, jedoch mit völlig negativem Erfolge.

Die aus den Gruben gezüchteten Typhus- und Paratyphusstämme entsprachen mikroskopisch und kulturell allen Anforderungen. Die Typhusstämme wurden von einem Typhusserum in der Verdünnung 1:10 000, dem Endtiter des Serums, noch kräftig agglutiniert, der Paratyphusstamm durch ein Serum, dessen Titer auf 1:5000 angegeben war, noch darüber hinaus in einer Verdünnung von 1:10 000.

Von 6 Abortgruben, die die Abgänge von Bacillenträgern oder der Trägerschaft verdächtigen Personen, wie Frau T., Fall 3 und Albert C., Fall 4, aufnahmen, konnten in 3 Typhus-, in 1 Paratyphusbacillen nachgewiesen werden. Es war leider nicht möglich, von den anderen Hausbewohnern, die die Gruben benutzten, Stuhl- und Urinproben zu erhalten, um bei ihnen die Abwesenheit von Typhus- bzw. Paratyphusbacillen feststellen zu können.

In keinem der Häuser aber war, soweit sich ermitteln ließ, in letzter Zeit eine Typhus- oder typhusverdächtige Erkrankung vorgekommen, so daß man wohl ungezwungen das Vorhandensein der Typhus- und Paratyphuserreger in den Abortgruben der Benutzung durch die betreffenden

Bacillenträger zuschreiben darf. Erfahrungsgemäß sind eine Reihe von Typhusinfektionen auf Bacillenträger zurückzuführen. Daß eine mangelhaft angelegte, von Bacillenträgern benutzte Abortanlage eine Gefahr für die Umgebung bilden kann, ist nicht von der Hand zu weisen. Die Trägerin Frau B. z. B., Fall 2, bewohnt seit 15 Jahren dasselbe Haus, als Eigentümerin. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist sie seit 1896 Typhusträgerin. In ihrem Hause ist nicht nur, wie oben schon mitgeteilt, die Abortgrube äußerst primitiv, sondern selbst das Fallrohr ist so undicht, daß eine Beschmutzung des im Erdgeschoß liegenden Abortes durch die im ersten Stockwerk wohnende Bacillenträgerin nicht ausgeschlossen ist. Für 7 Typhuserkrankungen, von denen 4 in ihrem eigenen, 3 im Nachbarhause in den Jahren 1900–1907 aufgetreten sind, bildete sie die einzige in Betracht kommende Infektionsquelle.

Auch die Infektion von Wasserläufen durch Dung, der aus Bacillenträgergruben stammt, ist denkbar. Berücksichtigt man, daß jedesmal nur sehr kleine Proben, ungefähr, 1–2 ccm des Grubeninhaltes untersucht wurden, und daß im Falle 5 z. B. Typhusbacillen in großer Anzahl gefunden wurden, so spricht das für die auch durch Galvagno und Calderini¹⁾ experimentell erhärtete Tatsache, daß die Typhusbacillen im Grubeninhalte eine bedeutende Lebensfähigkeit zeigen und den Kampf mit den konkurrierenden Bakterien wie Coli und Saprophyten erfolgreich aufnehmen können. Die oben mitgeteilten Befunde erhellen zur Genüge die Wichtigkeit der im Gebiet der Typhusbekämpfung aufgestellten Forderung, daß die zur Behausung von Bacillenträgern gehörenden Abortgruben vor der Entleerung zu desinfizieren sind. Der nicht schwierige Nachweis der Typhusbacillen in den Abortgruben der Bacillenträger ermöglicht auch eine bakteriologische Kontrolle derjenigen Träger, die die Abgabe von Untersuchungsmaterial verweigern oder in dem Verdacht stehen, falsches Material einzusenden. Ist z. B. der Befund in der Grube wiederholt positiv und die Untersuchung der übrigen Hausbewohner negativ ausgefallen, so ist der Schluß wohl berechtigt, daß der Bacillenträger noch weiter ausscheidet.

Nachdruck verboten.

Ueber die Flecktyphusepidemie in Kiew.

[Aus dem Alexander-Krankenhaus zu Kiew.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. med. **Marcus Rabinowitsch.**

Epidemien gleichen großen Warnungstafeln, an denen der Staatsmann von großem Stil lesen kann, daß in dem Entwicklungsgang seines Volkes eine Störung eingetreten ist, welche selbst eine sorglose Politik nicht länger übersehen darf.

Diese Warnung Rudolf Virchows, die er bei der Schilderung der Typhusepidemie in Oberschlesien im Jahre 1848 ausgesprochen hat, drängt sich unwillkürlich immer wieder auf, wenn man die gegenwärtigen Zustände in Rußland auch nur ganz oberflächlich zu überblicken Gelegenheit hat.

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 61. p. 185.

Wie oft und nachdrücklich muß hier diese Warnung wiederholt werden, da die entsetzlichen sozialen und hygienischen Verhältnisse Rußlands die von Virchow in Oberschlesien konstatierten bei weitem übertreffen, und da diese Verhältnisse sich nicht auf irgendeine Provinz beziehen, sondern überall auf der ganzen weiten Fläche des Riesenlandes die gleichen sind, und da das ganze Land — vom weiten Norden bis zum tiefen Süden, von der Ost- bis zur Westgrenze — von den verschiedensten Seuchen ganz verpestet ist.

Als ich vor ca. 3 Jahren an die Untersuchung der Recurrensepidemie in Kiew herantreten bin, ist mir die überraschende Tatsache aufgefallen, daß die Bevölkerung dieser Stadt seit einigen Jahren von den verschiedensten Epidemien — selbst von derartigen Infektionskrankheiten, die in anderen Kulturstaaten seit Dezennien überhaupt nicht mehr zum Vorschein gekommen sind — jahrein jahraus geplagt wird.

Die nähere Nachforschung hat damals zur Evidenz ergeben, daß die Ursache dieser traurigen Tatsache nur in den entsetzlichen sozialen und hygienischen Verhältnissen gesucht werden muß¹⁾. Und wenn wir heutzutage im allgemeinen den Epidemien — dieser schrecklichen Plage der Menschheit — gegenüber nicht mehr so ohnmächtig sind, wie in der vorbakteriologischen Zeit, so können doch alle Errungenschaften der Wissenschaft bei derartigen Verhältnissen nicht viel nützen.

Schon bei der Schilderung der erwähnten Recurrensepidemie habe ich darauf hingewiesen, daß eine Bevölkerung, die längere Zeit unter den geschilderten Verhältnissen lebt, in ihrer angeborenen Widerstandsfähigkeit den Krankheiten gegenüber stark geschwächt werden und in ganz gleicher Weise für die verschiedenen Infektionskrankheiten eine besonders hohe Empfänglichkeit zeigen muß.

Und in der Tat sind schon kurz darauf große Epidemien von Typhus abdominalis, Scarlatina und Diphtherie in der Stadt, und außerdem Scorbut im Gefängnisse ausgebrochen.

Gleichzeitig kam auch die Cholera zum Vorschein, die sich über ganz Rußland schon vorher ausgebreitet und viele Tausende von Menschenleben mitgerissen hat, und die, ohne im Laufe der letzten Jahre ganz aufzuhören, jetzt wieder das ganze Land zu verpesten droht.

Endlich ist im Jahre 1908 noch der Flecktyphus hinzugetreten, und im Anfange dieses Jahres gab es in Rußland kaum eine Gegend, in der derselbe nicht gewütet hätte.

Besonders verheerend war aber der Flecktyphus in den unglaublich überfüllten Gefängnissen, in denen die Mortalität 30 Proz. und darüber betrug. Nur wenige der Gefängnisse wurden ganz verschont, dagegen waren in vielen beinahe sämtliche Gefangene von der Seuche ergriffen, so daß die lokalen Kriminalgerichte ihre Tätigkeit unterbrechen mußten.

Statistik.

Der Flecktyphus kommt in der Stadt Kiew in ganz gleicher Weise wie die verschiedensten anderen Infektionskrankheiten endemisch vor.

Im Laufe des letzten Dezenniums wurden in sämtlichen, bezw. in einigen der 7 Krankenhäuser, von denen ich das Material gesammelt habe²⁾, jährlich mehr oder weniger Flecktyphusranke aufgenommen.

1) Ueber die Rückfalltyphusepidemie in Kiew. (Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 44—45.) Ueber die Febris recurrens. (Virchows Archiv. Bd. 194. Beiheft. p. 38.—168.)

2) Von den bei der Recurrens l. c. genau geschilderten Erwägungen ausgehend,

In einigen Jahren haben die einzelnen Erkrankungen plötzlich kleinere oder größere Epidemien hervorgerufen, aber nur die letzte Epidemie hat kolossale Dimensionen erreicht.

Im Dezember 1907 war noch kein einziger Flecktyphuskranker in den erwähnten Krankenhäusern vorhanden, und im Laufe des Januars 1908 wurden die 5 ersten Fälle ins jüdische Nikolaus- und Alexanderkrankenhaus aufgenommen.

Vom Februar 1908 ab ist die Zahl der Erkrankungen allmählich und unaufhörlich bis auf 208 Fälle im Mai gestiegen. In den 3 folgenden Sommermonaten hat sich die Zahl der Erkrankungen bis auf 47 Fälle im August vermindert, um vom September ab wieder in die Höhe zu steigen und die Zahl 565 im Februar 1909 zu erreichen.

Im Frühjahr 1909 hat sich die Zahl der Erkrankungen wieder allmählich bis auf einzelne Fälle in der zweiten Hälfte des Monats Mai vermindert.

In bezug auf die einzelnen Monate hat sich die Zahl der Erkrankungen in folgender Weise verteilt (Tabelle I).

Tabelle I.

Jahr und Monat	Männer	Frauen	Zusammen
1908			
Januar	3	2	5
Februar	20	3	23
März	25	3	28
April	92	6	98
Mai	208	17	225
Juni	168	20	188
Juli	78	17	95
August	22	25	47
September	81	41	122
Oktober	103	45	148
November	197	89	286
Dezember	260	65	325
1909			
Januar	367	119	486
Februar	440	125	565
März	272	78	350
April	142	42	184
Mai	61	25	86
Zusammen	2539	722	3261

Wie die Tabelle I zeigt, hat sich die Zahl der Erkrankungen in den Sommermonaten ebenso im Anfange der Epidemie wie am Schlusse der-

habe ich mich auch diesmal bemüht, soweit es möglich ist, sämtliche Fälle der Epidemie in Betracht zu ziehen. Dank der Liebenswürdigkeit der Herren DDr. Baranow, Breslawsky, Demtschenko, Kwjatkowski, Milowidow, Netschaj, Neustube und Schemelfenig, die bereitwillig mir entgegengekommen sind, wofür ich an dieser Stelle allen diesen Herren meinen innigsten Dank ausspreche, ist es mir auch gelungen, beinahe das ganze Material zu sammeln.

Die Statistik der früheren Jahre wurde nach den offiziellen Jahresberichten des Alexander-, Kirillow-, Nikolaus-, Pokrower- und Jüdischen Krankenhauses, wie auch des Militärhospitals zusammengestellt. Von den Jahresberichten des Gefängniskrankenhauses habe ich nur die seit dem Jahre 1906 erhalten können.

Die Statistik der letzten, vom Januar 1908 bis Mai 1909 dauernden Epidemie wurde hauptsächlich nach den Krankengeschichten, in einigen Fällen nach den monatlichen Berichten und den Aufnahmebüchern der erwähnten Krankenhäuser zusammengestellt.

selben vermindert, und Männer erkrankten um ca. 3,5mal mehr als Frauen.

Da bei der Recurrens, wie die Beobachtungen gelehrt haben, die Jahreszeiten keinen Einfluß auf die Ausbreitung der Epidemie hatten, so kann man vermuten, daß der Sommerszeitirgend ein hemmender Einfluß auf die Ausbreitung der Epidemie zukommt. Indessen werden erst die weiteren Beobachtungen diese Vermutung ganz entscheiden können.

Was das Geschlecht anbetrifft, so ist auch bei der Recurrens die Zahl der erkrankten Männer um ca. 3,5mal größer gewesen, als die der erkrankten Frauen. Diese Tatsache läßt also die bei der Recurrens ausgesprochene Vermutung als ganz zutreffend erscheinen, nämlich, daß dieser Umstand dadurch erklärt werden muß, daß die arme Bevölkerung, die das Krankenmaterial liefert, hauptsächlich aus der Arbeiterklasse besteht, die vorzugsweise aus dem von Dörfern angekommenen jugendlichen männlichen Element zusammengesetzt wird.

Einen weiteren Beweis dafür, daß beide Geschlechter dem Flecktyphus gegenüber gleich empfänglich sind und die Unterschiede in der Zahl der Erkrankungen nur auf verschiedene Umstände zurückgeführt werden müssen, kann der Verlauf der Epidemie im Gefängnisse liefern.

Hier ist die Epidemie erst im April 1908 aufgetreten, hat sich schnell ausgebreitet und im ganzen 840 Männer und 27 Frauen ergriffen. Es erkrankten also hier Männer ca. 31mal mehr als Frauen.

Dieser Umstand läßt sich hauptsächlich dadurch erklären, daß Männer im Gefängnisse viel mehr als Frauen sich befinden und daß die Frauenabteilungen im Gefängnisse bei weitem nicht so überfüllt sind, wie die Männerabteilungen, wo die Gefangenen, dicht aneinander gedrängt, auch auf dem Boden gelagert werden, den sie dicht bis an die Tür, in deren Nähe die historisch berühmte „Parascha“¹⁾ steht, bedecken.

Daß auch die größere Reinlichkeit der Frauen dabei eine wichtige Rolle spielt, folgt daraus, daß unter politischen Verbrechern, die aus intelligenten Männern bestehen und gesondert gehalten werden, nur wenige erkranken. Wenn man aber die Zahl der Krankheitsfälle im Gefängnisse von der Gesamtzahl der Erkrankungen, die in der Tabelle I angegeben ist, abzieht, so wird die Zahl der in der Stadt erkrankten Männer nur ca. 2,4mal größer, als diejenige der erkrankten Frauen.

Diese Zahl wird aber noch kleiner, wenn man von der Zahl der erkrankten Männer noch die 105 Fälle aus dem Militärhospital abzieht, von denen zahlreiche aus Regimentern, die außerhalb der Stadt liegen, zugesendet wurden.

Wenn ich jetzt die Statistik der in den letzten Jahren in den erwähnten 7 Krankenhäusern²⁾ der Stadt Kiew aufgenommenen Flecktyphuskranken zusammenstelle, so beträgt die Zahl derselben in den einzelnen Jahren:

1) Eine große Kufe, wohin die Gefangenen ihre Exkrete ausleeren und die nur morgens herausgetragen wird.

2) Wie weiter oben schon erwähnt wurde, konnte ich aus dem Gefängnis Krankenhaus nur die Jahresberichte seit dem Jahre 1906 bekommen. Aus der mündlichen Mitteilung des Oberarztes des Krankenhauses, Herrn Dr. Baranow, dem ich zu Danke verpflichtet bin, habe ich erfahren, daß vorher keine Flecktyphusepidemien im Gefängnisse vorgekommen sind. In den Jahresberichten der Jahre 1906 und 1907 ist kein einziger Fall verzeichnet. Das läßt sich wohl dadurch erklären, daß in den Jahren des russisch-japanischen Krieges und in den Jahren der Freiheit, die von der Verkündigung der Konstitution bis zur Auflösung der zweiten „Duma“ gedauert haben, sämtliche Gefängnisse Rußlands stark geleert wurden.

Tabelle II.

Jahre	1901	1902	1903	1904	1905	1906	1907	1908	1909 ¹⁾
Zahl der Fälle	40	135	66	457	857	42	74	1590	1671

Wie die Tabelle II zeigt, sind jährlich in der Stadt mehr oder weniger Fälle von Flecktyphus verzeichnet worden. Diese Fälle, auf das ganze Jahr sich verteilend, kamen vereinzelt in den verschiedensten Stadtteilen vor, und nur in den Jahren 1904 und 1905, in denen die Rückkehr des Heeres von dem Kriegsschauplatz erfolgte, haben die einzelnen Fälle zu größeren Epidemien geführt.

In diesen Jahren war auch die Zahl der im Militärhospital aufgenommenen Fälle größer als in den übrigen Jahren, aber in keinem einzigen der früheren Jahre hat die Epidemie zu derartigen kolossalen Dimensionen sich ausgedehnt, wie in den letzten 17 Monaten.

Was das Alter der in den letzten 17 Monaten Erkrankten betrifft, so verteilte sich die Zahl der erwähnten Fälle folgenderweise:

Tabelle III.

Alter		Männer	Frauen	Zusammen
Unter 5	Jahren	13	19	32
von 6—10	„	37	48	85
„ 11—14	„	81	51	132
„ 15—20	„	494	146	640
„ 21—30	„	1025	230	1255
„ 31—40	„	519	121	640
„ 41—50	„	153	71	224
„ 51—60	„	49	20	69
„ 61—70	„	11	10	21
und bis 88	„	1	—	1
Zusammen		2383	716	3099

Wie aus der Tabelle III zu ersehen ist, bezog sich die größte Zahl der Erkrankungen bei dem Flecktyphus auf das Alter von 15 bis 40 Jahren bei den Männern und von 15 bis 30 bei den Frauen.

Ungefähr dieselben Verhältnisse wurden früher auch bei der Recurrens konstatiert, und deshalb kann auch dieser Umstand mit Recht auf die weiter oben angeführten Gründe zurückgeführt werden.

Endlich bleibt noch die Mortalität zu berücksichtigen.

Die Mortalität wird eine verschiedene sein, je nachdem man die Gesamtmortalität berechnet, oder gesondert die Mortalität des Jahres 1908 und 1909, oder endlich die Mortalität der einzelnen Monate berücksichtigt. Verschieden wird auch die Mortalität sein, wenn diejenige im Gefängnisse extra für sich betrachtet wird, aber auch im Gefängnisse war die Mortalität in den verschiedenen Jahren und Monaten eine sehr wechselnde.

Die Gesamtmortalität betrug ca. 12 Proz. der erkrankten Fälle, im Gefängnisse erreichte sie ca. 23,0 Proz., während sie in der Stadt nur ca. 8,1 Proz. der Gesamtzahl der Erkrankungen betrug.

Die Mortalität des Jahres 1908 war ca. 14,4 Proz., die des Jahres 1909 ca. 9,9 Proz. Betrachtet man aber die jährliche Mortalität in der Stadt und im Gefängnisse gesondert, so erreichte sie im Gefängnisse im

1) Vom 1. Januar bis zum 30. Mai.

Jahre 1908 ca. 27,2 Proz. und im Jahre 1909 ca. 17,5 Proz.; in der Stadt betrug sie dagegen im Jahre 1908 ca. 9,3 Proz., im Jahre 1909 ca. 7,1 Proz.

Was die monatliche Mortalität anlangt, so war sie auch sehr verschieden im Gefängnisse und in der Stadt.

Im Gefängnisse erreichte die höchste monatliche Mortalität im Jahre 1908 ca. 40 Proz., während sie in der Stadt nie ganz 15 Proz. erreicht hat.

Was endlich das Alter und Geschlecht der Verstorbenen betrifft, so konnte unter den 394 Verstorbenen ¹⁾ in 21 Fällen nichts Näheres festgestellt werden, die übrigen 373 Fälle verteilten sich folgenderweise:

Tabelle IV.

Alter		Männer	Frauen	Zusammen
Unter 5	Jahren	1	—	1
von 6—10	„	—	—	—
„ 11—14	„	2	—	2
„ 15—20	„	24	4	28
„ 21—30	„	150	9	159
„ 31—40	„	82	11	93
„ 41—50	„	43	16	59
„ 51—60	„	12	13	25
„ 61—70	„	1	5	6
Zusammen		315	58	373

Vergleicht man die Mortalität in verschiedenen Altern beim Flecktyphus mit der an den erwähnten Stellen aufgeführten bei der Recurrens, so sieht man, daß, im Gegensatz zu der Recurrens, vom Flecktyphus auch das jugendliche Alter nicht verschont wird.

Außerdem ist aus der Tabelle IV zu entnehmen, daß im allgemeinen das jugendliche Alter der Krankheit gegenüber widerstandsfähiger ist, als das ältere, dabei sind aber im jugendlichen Alter die Frauen widerstandsfähiger als die Männer, das Umgekehrte ist im höheren Alter der Fall.

Tabelle V.

Jahr und Monat	Männer	Frauen	Zusammen
1908			
Januar	1	—	1
Februar	4	—	4
März	1	—	1
April	16	—	16
Mai	98	1	39
Juni	58	2	60
Juli	20	—	20
August	6	1	7
September	6	7	13
Oktober	13	5	18
November	10	9	19
Dezember	27	4	31
1909			
Januar	20	6	26
Februar	37	14	51
März	49	6	55
April	25	2	27
Mai	5	1	6
Zusammen	336	58	394

1) Diese Zahl steht unter der tatsächlichen, denn es ist mir nicht gelungen, sämtliche Todesfälle festzustellen.

Im ganz hohen, 50 Jahre überschreitenden Alter scheint die Widerstandsfähigkeit dem Flecktyphus gegenüber bei den Männern wieder eine ziemlich hohe zu sein. Von Interesse ist wohl noch, zu bemerken, daß der einzige 88 Jahre alte Kranke den Flecktyphus sehr leicht überstanden hat.

Daß aber in einzelnen Fällen verschiedene andere Umstände, wie allgemeine Konstitution, vorausgegangene Krankheiten und mit diesen, wie auch mit der Krankheit selbst verbundene Komplikationen und Mischinfektionen für den Ausgang der Krankheit entscheidend sein konnten, ist selbstverständlich.

In den einzelnen Monaten hat sich die Gesamtzahl der Todesfälle in obenstehender Weise verteilt (s. Tabelle V).

Aus diesen Zahlen irgendeinen Schluß über die Beziehung der Mortalität nach den Jahreszeiten zu ziehen, ist wohl kaum möglich.

Aetiologie.

Schon von alters her wurde mit Bestimmtheit behauptet, daß der Flecktyphus durch irgendeinen Erreger erzeugt werden müsse, aber erst Ende der sechziger Jahre des vorigen Jahrhunderts hat Hallier mitgeteilt, daß er im Blute der Flecktyphuskranken einen „Micrococcus“ gefunden hat, den er auch als den spezifischen Erreger betrachtete.

Nach dieser ersten Mitteilung, die bald widerlegt wurde, folgte erst in den neunziger Jahren eine ganze Reihe von Mitteilungen von zahlreichen Autoren verschiedener Länder, in denen von verschiedenen Gebilden berichtet wurde, die die „spezifischen Flecktyphuserreger“ sein sollten.

Es wurden „Mikrokokken“, „Diplokokken“, „Spirillen“, verschiedenartige „Stäbchen“, „Hefepilze“ und „Protozoen“ bei den Flecktyphuskranken gefunden und beschrieben und als „Erreger“ gedeutet.

Während aber die einen Autoren das Blut von den Kranken untersucht haben, begnügten sich die anderen mit der Untersuchung des Leichenblutes und -Organen. Andere Autoren konnten bei derartigen Untersuchungen überhaupt nichts finden, weswegen sie sich zu den Exkreten wendeten und aus diesen den „Erreger“ gezüchtet haben.

Andere Autoren wendeten sich nach erfolglosem Suchen im Blute und in den Organen zu dem „pneumonischen Lungensaft“ und züchteten aus diesem einen „Diplococcus“, der als der „spezifische Erreger“ gedeutet wurde.

In den letzten Jahren haben sich mit dieser Frage die russischen Forscher eingehend beschäftigt, und unter diesen besonders Lewaschew, der Ende des vorigen Jahrhunderts eine ganze Reihe von Mitteilungen gemacht hat.

Merkwürdigerweise hat aber Lewaschew zugleich vier verschiedenartige Gebilde („Spirillen“, „Kokkospirillen“, „Mikrokokken“ und „Protozoen“) bei den Flecktyphuskranken gefunden und beschrieben und diese Gebilde sämtlich als „spezifische Erreger“ gedeutet.

Und so ist es begreiflich, daß die Frage über den Flecktyphuserreger bis jetzt offen geblieben ist.

In Anbetracht der Fülle der vorher entdeckten „Erreger“ des Flecktyphus sah ich eine Möglichkeit, der Frage näherzutreten, darin, daß dieselbe von verschiedenen Seiten in Angriff genommen wird, was mir auch bei meinen Untersuchungen mit Erfolg durchzuführen gelungen ist.

Da aber diese Untersuchungen gesondert ganz ausführlich an anderer Stelle geschildert werden, so sollen hier nur ganz kurz die Ergebnisse der Untersuchungen mitgeteilt werden.

Von der Erwägung ausgehend, daß der Parasit in den Organen vorhanden sein muß, wenn er im Blute kreist, habe ich mit der Untersuchung der Organe von an Flecktyphus Verstorbenen begonnen.

In den verschiedensten inneren Organen, wie auch in den Schnitten durch die Hautexantheme von zahlreichen Fällen konnte ich durch die Silberimprägnation und durch die Gramsche Färbung regelmäßig einen kurzen Diplobacillus mit abgerundeten Enden nachweisen.

Diesen Diplobacillus konnte ich nachher in ähnlicher Weise auch in den Schnitten durch das geronnene, vom Kranken steril entnommene Venenblut nachweisen.

In den Ausstrichen von Blut, ganz gleich, ob dasselbe vom Ohrläppchen, von einer Fingerkuppe oder aus der Armvene entnommen wurde, konnte ich in zahlreichen Fällen regelmäßig dieselben Diplobacillen nachweisen. Hier zeigen sie bei der Giemsa-Färbung, durch welche sie ausschließlich hier nachgewiesen werden können, eine hellere mittlere Zone.

Denselben Diplobacillus zu züchten, ist mir auch in mehreren Fällen aus dem steril entnommenen Venenblut der Kranken gelungen¹⁾.

Die erste Generation des Diplobacillus wächst bei entsprechenden Manipulationen auf Glyzerin-Agar, aber sehr langsam und kümmerlich. Beim weiteren Züchten wächst er reichlicher und auch auf anderen Nährböden, besonders reichlich wächst er aber auf Ascites-Agar.

Bouillon wird nicht getrübt, sondern die spärlichen Kulturmassen setzen sich nach einigen Tagen auf den Boden und die Wände des Reagensglases ab.

Auf den festen Nährböden erinnert das Wachstum an dasjenige von jungen Streptokokkenkulturen.

Die Stäbchen sind im hängenden Tropfen unbeweglich, kurz, plump, mit abgerundeten Enden und zeigen eine hellere mittlere Zone, die auch bei der Färbung mit den verschiedensten Anilinfarben deutlich zutage tritt. Sie sind grampositiv.

Ein einziges Mal ist es mir gelungen, eine Kultur auch auf Löfflers Serum zu gewinnen, aber die Stäbchen, die in den kulturellen Eigenschaften den anderen ganz ähnlich waren, zeigten eine Abweichung in ihren morphologischen Eigenschaften; sie hatten eine mehr ovoide Form. Auch diese waren grampositiv.

Ob diese Abweichung in der Form des Diplobacillus auf die Unterschiede im Nährboden, auf dem sie zuerst gezüchtet wurden, oder auf andere Umstände zurückzuführen ist, konnte ich nicht entscheiden.

Die Reinkultur des Diplobacillus wurde in den ersten Generationen von einer sehr starken Verdünnung des Blutserums von Flecktyphuskranken, die die Krankheit überstanden haben, agglutiniert, dagegen wurden die späteren Generationen nur von Verdünnungen bis 1:160 agglutiniert.

Bei Impfversuchen hat sich die Reinkultur als virulent für Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäuse erwiesen.

1) Sämtliche Präparate, Kulturen und Agglutinationsversuche wurden am 5.—18. Mai im Aerzteverein des Alexanderkrankenhauses demonstriert.

Der *Diplobacillus* ist nach der Impfung im Blute der Tiere erschienen, und bei den Kaninchen und Meerschweinchen konnte ein Krankheitsbild konstatiert werden, welches demjenigen beim Menschen sehr ähnlich war.

Auf Grund der geschilderten Untersuchungen, wie auf Grund der Tatsache, daß die zahlreichen anderen Untersuchungen, in denen von verschiedenen spezifischen Erregern berichtet wurde, wie bei der ausführlichen Schilderung nachgewiesen werden soll, nicht einwandfrei sind, kann man, wie mir scheint, annehmen, daß dem *Diplobacillus* eine ätiologische Bedeutung für den Flecktyphus zukommt.

Epidemiologie.

Wenn aber durch die geschilderten Untersuchungen die längst a priori aufgestellte Behauptung, daß der Flecktyphus durch einen eigenartigen Erreger erzeugt werden muß, bestätigt wird, so kann dadurch für die Erklärung der Entstehungs- und Ausbreitungsart der Flecktyphusepidemien ebensowenig beigebracht werden, wie von der Entdeckung der Recurrensspirille für die Erklärung der Recurrensepidemien geliefert worden ist.

Seit der Entdeckung der Recurrensspirille sind schon über 36 Jahre verflossen, aber bisher blieb immer noch die Ursache der Entstehung und Ausbreitung der Recurrensepidemien nicht erklärt.

Warum ist die Recurrens seit ca. 30 Jahren in Deutschland überhaupt nicht mehr zum Vorschein gekommen? Warum kommt sie, wie ich l. c. nachgewiesen habe, in einigen Städten Rußlands epidemisch, in den anderen sporadisch und in den dritten endemisch vor? Warum ist dies auch in denselben Städten zu verschiedenen Zeiten der Fall? Alle diese Fragen blieben auch nach der Entdeckung des Recurrensspirillum offen.

Und deshalb kann es auch nicht wunder nehmen, wenn wir von den Flecktyphusepidemien, deren Erreger bis jetzt unbekannt blieb, ebensowenig wissen, obgleich diese Frage wiederholt von verschiedenen Autoren ventilirt wurde.

Schon im Anfange des 19. Jahrhunderts, wo die Recurrens- und Flecktyphusepidemien in England zuerst ausgebrochen und viele Jahre gewüthet haben, wurde von den englischen Forschern konstatiert, daß die schlechten hygienischen Verhältnisse die Schuld an der Ausbreitung der Epidemien tragen.

Bald haben aber die englischen Forscher konstatiren können, daß in der einen Gegend ausschließlich Flecktyphus, in der anderen Recurrens gewüthet hat, in anderen wiederum kamen beide Formen gleichzeitig oder nacheinander zum Vorschein.

Diesen Umstand haben die englischen Forscher in der Weise zu erklären gesucht, daß sie den Flecktyphus auf das gedrängte Zusammenwohnen, die Recurrens auf die Hungersnot zurückgeführt haben.

„Es war der Fleck- und nicht der rekurrirende Typhus — sagt Murchison — welchen man früher in überfüllten Krankenhäusern, Schiffen und Gefängnissen beobachtet hat, und welchem man als einer Folge von übermäßig dichtem Zusammensein in den Zwischenräumen großer Epidemien begegnet, in denen keine allgemeine Hungersnot herrscht. Umgekehrt ist es rekurrirender und nicht Flecktyphus, was man als direkte Folge von Hungersnot beobachtet hat“¹⁾.

Die englischen Forscher waren von dieser Klassifikation derart fest überzeugt, daß sie die Recurrens „famine fever“ genannt haben.

1) Die typhoiden Krankheiten. Braunschweig 1867. p. 303.

Derselben Ansicht über die Ursache der Ausbreitung von Flecktyphus und Recurrens war auch Griesinger.

„Wenn irgendeine typhoide Krankheit den Namen des Hunger-typhus verdient — sagt Griesinger — so ist es diese (*F. recurrens*)“¹⁾. Dieser Anschauung sind auch die meisten späteren Autoren beigetreten.

In der neuesten Zeit hat auch Curschmann das gedrängte Zusammenwohnen und die schlechte Ventilation als die wichtigsten begünstigenden Momente für die Entstehung und Ausbreitung des Flecktyphus betrachtet.

„Im ganzen läßt sich sagen — betont Curschmann — daß mit der Konzentration des Giftes, die im direkten Verhältnis zur Zahl der Kranken und im umgekehrten zur Größe und Ventilationsmöglichkeit der von ihnen besetzten Räume steht, und weiter mit der Häufigkeit und Dauer der Exposition die Gefahr der Ansteckung zunimmt“²⁾.

Diese längst bekannte und wiederholt geäußerte Tatsache ist an sich wohl ganz zutreffend, aber in bezug auf die verschiedensten Krankheiten.

Schon bei der Schilderung der Recurrensepidemie in Kiew (l. c.) habe ich den Nachweis geliefert, daß die menschliche Misere — Hunger, Not, gedrängtes Zusammenwohnen und die ganze Reihe verschiedener Momente, die voneinander nicht zu trennen sind, und die wir unter dem Begriff der unhygienischen Verhältnisse zusammenfassen — die wichtigsten der Ursachen der Entstehung und Ausbreitung der verschiedensten Epidemien darstellen.

Zu einem anderen Schluß kommt aber Curschmann aus dem Vergleich des Unterleibs- mit dem Flecktyphus.

„Während der Unterleibstypus — sagt Curschmann (l. c. p. 8) — der Natur und Verbreitungsweise seines Kontagiums gemäß, nur unter besonderen Umständen in großen Epidemien, vielmehr fast nur vereinzelt oder in umschriebenen kleineren oder größeren Herden sich zeigt, bedingt die Flüchtigkeit des Fleckfiebergiftes, die Leichtigkeit seines Transportes durch die Luft oder mit ihm beladene leblose Gegenstände sofort eine außerordentliche Verbreitung der Krankheiten.“

Wie unzutreffend diese Behauptung ist, kann die folgende, in der Tabelle VI verzeichnete Uebersicht der Ausbreitung der verschiedenen Typhusformen in der Stadt Kiew im Laufe der letzten 8 Jahre nachweisen:

Tabelle VI.

Jahre	Typh. exanthem.		Typh. abdominalis		Febr. recurrens	
	Erkrankte	gestorben	Erkrankte	gestorben	Erkrankte	gestorben
1901	40	4	517	38	195	3
1902	135	18	551	71	90	—
1903	66	4	407	36	17	—
1904	457	46	651	50	8	1
1905	857	52	747	80	23	—
1906	42	3	754	108	2 115	50
1907	74	5	1702	248	2 266	58
1908	1590	165	789	103	8 860	285
Zusammen	3261	297	6118	734	13 574	397

1) Infektionskrankheiten. (Virchows Handb. d. spez. Path. u. Therap. 2. Aufl. p. 278.)

2) Das Fleckfieber. (Nothnagels spez. Path. u. Therap. Bd. 3. II. Abt. 1900. p. 14.)

Aus den strengen toten Zahlen der Tabelle VI folgt zur Evidenz, daß sämtliche Typhusformen in ganz gleicher Weise in der Stadt Kiew endemisch vorkommen. In einigen Jahren hat die eine Form, in den anderen die andere oder zwei zusammen eine größere Epidemie hervorgerufen, und nur in den letzten Jahren — den Jahren der größten Not und des größten Elends — haben alle 3 Formen gewütet. Aus dieser Tabelle folgt auch, daß, im Gegensatz zu Curschmanns Behauptung, der Typhus abdominalis regelmäßiger größere Epidemien erzeugt hat als der Typhus exanthematicus, und die größten, schrecklichsten Epidemien hat die Febris recurrens hervorgerufen.

Eine weitere Widerlegung der Curschmannschen Behauptung kann die Tatsache liefern, daß im Laufe der letzten 16 Monate — vom 1. Januar 1908 bis 1. Mai 1909 im Gefängnisse an Febris recurrens 4475 Fälle, dagegen an Flecktyphus nur 856 Fälle erkrankten.

Daß das Kontagium des Unterleibstyphus nicht „flüchtig“ ist, gibt Curschmann zu, er wird es wohl auch in bezug auf die Recurrensspirille zugeben, aber trotzdem sehen wir, daß gerade diese Erreger die häufigsten und größten Epidemien erzeugt haben.

Ob der Flecktyphuserreger „flüchtig“ ist oder nicht, soll, da es überhaupt erst nachgewiesen werden muß, dahingestellt bleiben; jedenfalls haben die direkten, darauf sich beziehenden Nachforschungen den Beweis dafür geliefert, daß durch die „Flüchtigkeit“ des Erregers die Ausbreitung der Epidemien nicht erklärt werden kann.

Diese Nachforschung bestand darin, daß sämtliche Krankheitsfälle des Jahres 1908, soweit ihre Adressen angegeben waren, von den ersten Erkrankungen angefangen, nach den Straßen und Häusern klassifiziert wurden.

Dabei hat sich herausgestellt, daß die ersten 5 Fälle in Häusern erkrankten, die in verschiedenen, voneinander weit entfernten Stadtvierteln liegen.

In drei von diesen Häusern sind im Laufe des Jahres keine Erkrankungen mehr vorgekommen; in den übrigen sind auch weitere Erkrankungen verzeichnet worden, aber in Zwischenräumen von mehreren Monaten.

Im weiteren Verlauf der Epidemie sind immer mehr und mehr Häuser befallen worden, aber ohne jede Auswahl und Zusammenhang.

Auch in den ergriffenen Häusern sind meist sämtliche übrigen Wohnungen verschont geblieben, aber selbst in derselben Wohnung erkrankten zwar häufig ganze Familien gleichzeitig; aber noch häufiger sind nur vereinzelt Personen von den zahlreichen Bewohnern von der Krankheit befallen worden, die übrigen blieben dagegen verschont. Das war auch bei gedrängtem Zusammenwohnen in den Arbeitergenossenschaften der Fall.

Ein Vergleich der Ausbreitung des Flecktyphus mit derjenigen der Recurrens und des Unterleibstyphus, nach der in ähnlicher Weise geforscht wurde, hat, wie die folgende Tabelle VII zeigen wird, ergeben, daß durch die letzten beiden Typhusformen viel mehr Häuser und in den einzelnen Häusern viel mehr Erkrankungen vorgekommen sind als durch Flecktyphus. In den meisten Häusern kamen gleichzeitig 2 bzw. alle 3 Typhusformen vor (s. Tabelle VII).

Wenn nach den in der Tabelle VII verzeichneten Zahlen der ergriffenen Straßen und Häuser und nach der Zahl der Fälle, die in den einzelnen Häusern vorgekommen sind, auf die „Flüchtigkeit“ des Erregers

Tabelle VII.

Kategorieen	Typh. exanthem.	Typh. abdomin.	Typh. recurrens
Zahl der befallenen Straßen	125	121	184
„ „ Häuser	394	381	1934
„ „ registrierten Fälle ¹⁾	577	453	3115
„ „ Häuser mit 43 Fällen	—	—	1
„ „ „ „ 32 „	—	—	1
„ „ „ „ 30 „	—	—	1
„ „ „ „ 29 „	—	—	1
„ „ „ „ 28 „	—	—	1
„ „ „ „ 23 „	—	—	1
„ „ „ „ 20 „	—	—	3
„ „ „ „ 16 „	1	—	1
„ „ „ „ 13 „	—	—	2
„ „ „ „ 12 „	—	—	2
„ „ „ „ 11 „	—	1	5
„ „ „ „ 10 „	—	—	3
„ „ „ „ 9 „	—	—	5
„ „ „ „ 8 „	—	—	6
„ „ „ „ 7 „	2	—	11
„ „ „ „ 6 „	4	—	13
„ „ „ „ 5 „	5	2	17
„ „ „ „ 4 „	6	5	54
„ „ „ „ 3 „	16	4	83
„ „ „ „ 2 „	46	31	198
„ „ „ „ 1 Fall	314	338	1525

geurteilt werden soll, muß dem Recurrensspirillum die größte Flüchtigkeit zugeschrieben werden.

Vergleicht man aber miteinander die prozentualen Verhältnisse der Zahlen von Häusern, in den von den verschiedenen Typhusformen nur je ein Fall vorgekommen ist, so sehen wir, daß beim Flecktyphus in ca. 79,9 Proz., beim Typhus abdominalis in ca. 88,7 Proz., und bei der Recurrens in ca. 78,9 Proz. der Gesamtzahl der ergriffenen Häuser je ein Krankheitsfall vorgekommen ist.

Daraus kann man schließen, daß die Ausbreitungsart bei sämtlichen Typhusformen beinahe die gleiche ist, beim Flecktyphus und bei der Recurrens ist sie eine ganz übereinstimmende, und beim Unterleibstypus weicht sie nur unbedeutend ab.

Aus dieser Tatsache folgt also, daß durch die „Flüchtigkeit“ des Erregers die Ausbreitung der Epidemien nicht erklärt werden kann, und letztere mit irgendeiner anderen Ursache im Zusammenhange stehen muß, die in gleicher Weise bei den verschiedensten Epidemien zur Geltung kommt.

Als eine derartige Ursache wird allgemein die Disposition betrachtet, welche hauptsächlich bei Personen auftritt, die, wie aus der vorausgegangenen Schilderung folgt, unter schlechten hygienischen Verhältnissen leben.

Das ist wohl, wie auch aus den bei der Recurrens angeführten Tatsachen folgt, im allgemeinen ganz zutreffend; es bedarf aber einer näheren Erklärung, wie wir den Zusammenhang zwischen den schlechten hygienischen Verhältnissen, der Disposition und der Ausbreitung von Epidemien uns vorzustellen haben.

1) Diese Zahlen betreffen nur diejenigen Fälle, die in der Stadt vorgekommen sind; diejenigen Fälle, die außerhalb der Stadt — in den Vororten, in den Krankenhäusern und im Gefängnisse — erkrankt sind, wurden nicht mitgerechnet.

Diese nähere Aufklärung ist um so notwendiger, als wir wissen, daß zur Entstehung einer Infektionskrankheit einzig und allein die Disposition nicht ausreicht, wie schon aus der Tatsache folgt, daß auch in denjenigen Gegenden, die in hygienischer Hinsicht am besten eingerichtet sind, immer ein Teil der Bevölkerung in schlechten Verhältnissen lebt und für Krankheiten disponiert ist, aber trotzdem kommen zahlreiche Infektionskrankheiten, die in anderen, selbst benachbarten Gegenden wüten, hier überhaupt nicht mehr zum Vorschein.

Diese merkwürdige Tatsache hat man dadurch zu erklären gesucht, daß die betreffenden Krankheitserreger im menschlichen Körper entstehen und nur in der Weise sich ausbreiten können, daß sie von einem Kranken auf den anderen übertragen werden.

Diese Ansicht, obgleich sie im Grunde falsch ist, da kein Krankheitserreger, wenn er ein *Contagium vivum* darstellt, im menschlichen Körper entstehen kann, herrscht in bezug auf verschiedene Infektionskrankheiten, und unter anderen auch in bezug auf den Flecktyphus.

„Er entsteht und verbreitet sich — sagt über das Fleckfieber¹⁾ Curschmann (l. c. p. 6) — ausschließlich dadurch, daß das im Körper eines Fleckfieberkranken erzeugte spezifische Kontagium²⁾ direkt oder indirekt auf Disponierte übertragen wird.“

Es erscheint mir aber ganz unbegreiflich, wie das Kontagium im Körper erzeugt werden soll, und um so mehr, als der Autor einige Seiten weiter (l. c. p. 25) selbst ausdrücklich betont, daß „wenn auch die Ursache des Fleckfiebers heute noch nicht bekannt ist, so ist doch sicher, daß es nie spontan entsteht³⁾, daß seine Entstehung und Verbreitung vielmehr ausschließlich an die Wirkung eines eigenartigen Erregers geknüpft sind, der nur im Körper des Fleckfieberkranken sich entwickelt und von ihm direkt oder indirekt auf Disponierte übertragen wird.“

Wenn also der Flecktyphus nie spontan entsteht und ausschließlich durch einen eigenartigen Erreger hervorgerufen wird, so kann dieser Erreger im Körper nicht erzeugt werden, sondern er muß von außerhalb in den Körper eindringen, und bei Vorhandensein der Disposition die Krankheit erzeugen.

Und wenn dieser eigenartige Erreger es einmal zu tun imstande ist, warum soll er es auch wiederholt zu tun nicht imstande sein?

Die Tatsache aber, daß wir außerhalb des Organismus nicht immer Erreger, die mit denjenigen, die aus dem Körper gezüchtet werden, in allen ihren Eigenschaften (morphologischen, kulturellen und pathogenen) ganz übereinstimmen, nachweisen können, kann einfach durch die Labilität ihrer Eigenschaften erklärt werden.

Die Labilität der morphologischen, kulturellen und pathogenen Eigenschaften der verschiedensten Krankheitserreger wurde wiederholt von zahlreichen Autoren experimentell nachgewiesen, und mir ist es auch bei Versuchen mit den Tuberkelbacillen gelungen, einen prägnanten Beweis dafür zu liefern.

Bei diesen meinen Untersuchungen³⁾ habe ich den Nachweis geliefert, daß sämtliche Eigenschaften der Tuberkelbacillen nicht nur beim

1) Curschmann nennt den Flecktyphus — Fleckfieber, aber, wie mir scheint, mit Unrecht, da bei dieser Krankheit die typhösen Erscheinungen viel regelmäßiger und intensiver zum Vorschein kommen als beim Unterleibstyphus.

2) Meine Sperrschrift.

3) Zeitschrift f. Tuberkulose. Bd. 9. Heft 4, 5 und 6.

Züchten auf verschiedenartigen Nährböden, sondern auch auf Blutserum von verschiedenen Tierarten, beträchtlich verändert werden.

Die erwähnten Eigenschaften der Tuberkelbacillen waren verschieden, je nachdem sie auf Menschen-, Rinder-, Pferde-, Schaf-, Schweine-, Hühner- oder Gänseserum gezüchtet wurden.

Außerdem haben die Versuche gelehrt, daß auch die von verschiedenen Medien (Sputum, Eiter, Blut, Cerebrospinal- und Ascitesflüssigkeit) desselben Kranken gezüchteten Tuberkelbacillen in den erwähnten Eigenschaften verschieden sind. Auch die zuerst von Römer gemachte Beobachtung, daß ein schlecht wachsender Rindertuberkelbacillenstamm nach der Passage eines Mäusekörpers ein viel reichlicheres Wachstum zeigt, konnte ich bestätigen.

Und besonders zahlreich sind gerade diejenigen Versuche, die die leichte Veränderung der Pathogenität der Bakterien nachweisen, von welcher Eigenschaft, wie bekannt, Pasteur die ganze Immunitätslehre abgeleitet hat.

Pasteur¹⁾ war auch der erste, der den Nachweis geliefert hat, daß die biologischen Eigenschaften, die chemischen Leistungen und damit auch die Pathogenität von verschiedenen Bakterien bei Symbiose von mehreren verschiedenen Arten sehr verschieden sind, was nachträglich von zahlreichen Autoren inbezug auf die verschiedensten Bakterien bestätigt werden konnte.

Alle diese Tatsachen liefern den Beweis dafür, daß wir nur deshalb nicht sämtliche Krankheitserreger außerhalb des Organismus nachweisen können, weil sie hier, in anderem Milieu lebend, in einigen oder sämtlichen Eigenschaften mehr oder weniger stark verändert werden, was besonders häufig und schnell bei denjenigen Bakterien zur Geltung kommen muß, die keine Sporen bilden und deshalb weniger widerstandsfähig sind.

Dafür spricht auch die Tatsache, daß beinahe jedem spezifischen Bacillus gegenüber ein entsprechender Pseudobacillus nachgewiesen worden ist.

Diese Annahme hat um so mehr Berechtigung, als etwas Ähnliches auch bei den höher entwickelten tierischen Parasiten beobachtet wird.

Von diesen Parasiten gibt es, wie bekannt, zahlreiche, die nur in bestimmten Entwicklungsstufen, zu denen sie sich in ganz bestimmten, anderen tierischen Körpern entwickeln, für den Menschen pathogen werden und in seinem Körper sich weiterentwickeln.

Und da die verschiedenen tierischen Organismen für den eingedrungenen Parasiten nichts anderes als verschiedene Milieus darstellen, so kann man mit Recht annehmen, ja die oben erwähnten Tatsachen zwingen, meiner Ansicht nach, sogar zu der Annahme, daß die Bakterien nur dann für den Menschen pathogen werden, wenn sie vorher andere bestimmte Milieus passiert haben²⁾.

Die Veränderung in den Bakterien, die nötig ist, damit sie die entsprechenden Krankheiten zu erzeugen imstande sind, kann, dank ihrer

1) Compt. rendus. 1877. p. 707.

2) Es ist selbstverständlich, daß auch der menschliche und tierische Körper ein derartiges Milieu darstellen können, und daß die verschiedensten von außen eindringenden Keime auch für den weniger disponierten Organismus pathogen werden können, nachdem sie an einen oder mehrere Disponierte sich angepaßt haben.

Fähigkeit, an die verschiedensten Nährböden sich anzupassen, sehr leicht entstehen, wenn nur das nötige Milieu vorhanden ist.

Dieses nötige Milieu finden aber die in der Natur, außerhalb des tierischen Körpers entstehenden verschiedenen Krankheitserreger in Unreinlichkeit, Schmutz, Zersetzungen und Verwesungen von organischen Substanzen, wie auch in den gewerblichen und sonstigen Verunreinigungen, welche bei schlechten hygienischen Verhältnissen überall und konstant, wie es auch in der Stadt Kiew der Fall ist, wahrgenommen werden können.

Wie aber die Erfahrung mit den „Bacillenträgern“ lehrt, können im menschlichen Körper die verschiedensten, von außen eingedrungenen pathogenen Krankheitserreger vorhanden sein, ohne ihrem Träger zu schaden, die aber, auf andere Menschen übertragen, bei diesen die entsprechende Krankheit zu erzeugen imstande sind.

Diese Tatsache führt den prägnanten Beweis dafür, daß die Anwesenheit auch von pathogenen Krankheitserregern einzig und allein zur Erzeugung der entsprechenden Krankheit nicht ausreicht, sondern daß im Organismus, in den sie eindringen, noch ein entsprechendes Milieu, d. h. eine bestimmte Zusammensetzung der Körpersäfte, vorhanden sein muß, damit die Krankheit entstehen kann.

Dafür, daß die Entstehung der Krankheit im tierischen Organismus mit von der Zusammensetzung seiner Körpersäfte abhängig ist, spricht auch die allgemein bekannte Tatsache, daß es zahlreiche Krankheiten gibt, die beinahe ausschließlich im kindlichen Alter vorkommen.

Auch bei den Impfversuchen verhalten sich nicht nur die verschiedenen Tierarten, sondern auch die Tiere derselben Art, aber von verschiedenen Rassen, Alter und Konstitution der Infektion mit Krankheitserregern gegenüber sehr verschieden.

In bezug auf *Recurrans* ist es mir gelungen, den Nachweis zu liefern, daß junge Mäuse und Ratten für die direkte Uebertragung von spirillenhaltigem Blut sehr empfänglich sind, während die älteren Tiere einer derartigen Infektion gegenüber sich ganz refraktär verhalten¹⁾.

Daß auch bei Kaninchen, die bis jetzt mit *Recurrans*spirillen zu infizieren überhaupt noch nicht gelungen ist, dasselbe zutrifft, konnte ich jetzt konstatieren.

Bei meinen Untersuchungen mit dem *Tetanus*bacillus habe ich feststellen können, daß die Wirkungsweise desselben und seiner Toxine nicht nur vom Nährboden abhängig ist, auf dem er gezüchtet wird, sondern auch vom Medium, mit dem er oder seine Toxine dem Körper einverleibt wird²⁾.

Aus allen oben erwähnten, durch langjährige ernste Arbeit von zahlreichen Forschern festgestellten Tatsachen geht deutlich hervor, daß jede Infektionskrankheit nur dann entstehen kann, wenn zwischen dem tierischen Körper und dem von außen eingedrungenen Krankheitserreger eine bestimmte Wechselwirkung zustande kommt, wozu aber eine bestimmte Disposition von seiten des befallenen Organismus und von seiten des befallenden Erregers nötig ist.

Wie diese bestimmte Disposition des Organismus für die Infektionskrankheiten durch die schlechten hygienischen Verhältnisse erzeugt wird, habe ich schon an anderer Stelle, auf die ich hinweisen muß, hervorgehoben³⁾ und werde dieselben später ausführlich auseinandersetzen.

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 581 u. Bd. 49. p. 183.

2) Arch. f. Hyg. Bd. 61. p. 103.

3) Virchows Arch. Bd. 194. Beiheft p. 50—52, 95—98, 142—145 u. 155—158.

Hier soll nur hervorgehoben werden, daß unter Disposition des tierischen Organismus für die Krankheiten ich den Verlust seiner angeborenen Fähigkeit verstehe, die verschiedensten Schädlichkeiten, besonders aber die bakteriellen Toxine zu neutralisieren und die Entwicklung der in ihn eingedrungenen Erreger zu hemmen.

Die hemmende und neutralisierende Wirkung des Organismus auf die eingedrungenen Bakterien, bzw. ihre Toxine, wird durch die Erzeugung eines neuen Milieus, d. h. einer entsprechenden Zusammensetzung der Körpersäfte bewirkt.

Diese Fähigkeit des Organismus, die Zusammensetzung seiner Körpersäfte in nötiger Weise zu verändern, wird dadurch ermöglicht, daß sämtliche ihn zusammensetzenden Zellen und Zellkomplexe in einer beständigen Wechselwirkung miteinander sich befinden, und durch die Veränderung dieser Wechselwirkung wird auch die Tätigkeit der einzelnen Zellen und Zellkomplexe, die sich in den Körpersäften äußert, verändert, aber nur quantitativ.

In dieser Weise kann der tierische Organismus, aber nicht durch seine einzelnen Zellen und Zellkomplexe, sondern als Ganzes, jeder Schädlichkeit entsprechend, wenn sie nur bestimmte Grenzen nicht überschritten hat, ein neutralisierendes Milieu erzeugen, in dem auch die Ursache der Immunität zu suchen ist.

Je nach der Intensität und Häufigkeit des Reizes, der von seiten der eingedrungenen Bakterien und seiner Toxine auf die Körperzellen ausgeübt wird, kann die Veränderung der Wechselwirkung zwischen denselben eine kurz oder lang dauernde, oder eine vorübergehende, oder eine konstante bleiben, und dementsprechend wird auch die spezifische, jedem Reize entsprechende Immunität des befallenen Organismus eine vorübergehende oder konstante sein.

Wird aber der Organismus, bzw. seine Zellen und Zellkomplexe durch Mangel an Nahrung und sauerstoffreicher Luft oder durch Erschöpfung durch Krankheiten und sonstige Schädlichkeiten, die bei schlechten sozialen und mit diesen in engem Zusammenhang stehenden hygienischen Verhältnissen im Ueberfluß zur Geltung kommen, in ihrer Funktions- und Lebensfähigkeit geschwächt, dann wird auch die Korrelation zwischen denselben gestört, der Organismus als ganzes ist nicht mehr imstande, dieselbe aufrecht zu erhalten, er kann nicht mehr jeder Schädlichkeit entsprechend ein neutralisierendes Milieu erzeugen, und in dieser Weise entsteht die Disposition.

Daraus folgt, daß die schlechten hygienischen Verhältnisse den Organismus in gleicher Weise für die verschiedensten Krankheiten disponiert machen.

Die Disposition muß deshalb eine allgemeine, die Immunität kann dagegen nur eine spezifische sein.

Wenn wir aber aus der vorausgegangenen Statistik sehen, daß, trotz des endemischen Vorkommens der verschiedensten Typhusformen in der Stadt Kiew die Bevölkerung dieser Stadt den erwähnten Krankheiten gegenüber nicht immun geworden ist, so kann die Ursache erstens daran liegen, daß im Laufe der Jahre von den ca. 500 000 Einwohnern dieser Stadt nur ein kleiner Teil die Krankheit überstanden hat; zweitens ist es möglich, daß nach dem Ueberstehen der Krankheit nicht immer eine konstante Immunität zum Vorschein kommt.

Die Nachforschung hat in der Tat gelehrt, daß diese beiden Ur-

sachen ganz zutreffend sind. Daß nur ein kleiner Teil der Bevölkerung die Krankheit überstanden hat, haben die statistischen Tabellen gezeigt; ich konnte aber auch konstatieren, daß zahlreiche Personen im Laufe des Jahres zwei- bzw. dreimal die Febris recurrens überstanden haben.

Wenn am Schlusse der Zusammenhang zwischen den schlechten hygienischen Verhältnissen, der Disposition und der Entstehung und Ausbreitung der Epidemie auf Grund der geschilderten Untersuchungen und Erwägungen kurz auseinandergesetzt werden soll, so wird er in folgender Weise dargestellt werden müssen:

1) Der Flecktyphus wird in ähnlicher Weise wie die anderen Typhusformen durch einen spezifischen Erreger hervorgerufen.

2) Bei jedem Flecktyphuskranken kann regelmäßig im Blute durch die Giemsa-Färbung ein *Diplobacillus* nachgewiesen werden. Derselbe kann auch regelmäßig in den verschiedenen inneren Organen, in den Hautexanthenen, wie auch in den Schnitten durch die Koagula des steril vom Kranken entnommenen Blutes mit Hilfe der Silberimpragnation und der Gramschen Färbung nachgewiesen werden.

3) Dieser *Diplobacillus*, in Reinkultur gewonnen, wird vom Serum der Flecktyphuskranken agglutiniert. Auch auf Tiere verimpft, erscheint er im Blute derselben und erzeugt bei Kaninchen und Meerschweinchen ein Krankheitsbild, welches demjenigen beim Menschen ähnlich ist, und deshalb kann man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß dieser *Diplobacillus* der spezifische Erreger ist.

4) Dieser in der Natur, außerhalb des menschlichen Körpers sich befindende *Diplobacillus* bekommt in ähnlicher Weise, wie die anderen Krankheitserreger, nur dann die Fähigkeit, die Krankheit zu erzeugen, wenn er ein bestimmtes, seine Virulenz bedingendes Milieu vorher zu passieren, und nachher mit einem disponierten Organismus in Wechselwirkung zu treten Gelegenheit hat.

5) Das nötige Milieu wird für den Flecktyphuserreger in ganz gleicher Weise, wie für die verschiedenen anderen Krankheitserreger durch Unreinlichkeit, Schmutz, Zersetzung und Verwesen von organischen Stoffen, wie auch durch gewerbliche und sonstige Verunreinigungen, welche bei schlechten hygienischen Verhältnissen konstant und überall vorkommen, geliefert.

6) Bei den schlechten sozialen und hygienischen Verhältnissen leidet ein großer Teil der Bevölkerung an Not, Mangel an nötiger Ernährung und sauerstoffreicher Luft und Erschöpfung, die ihn für die Krankheit disponiert machen.

7) Diese Disposition wird in der Weise erzeugt, daß der Organismus wegen Mangels des Optimum der Lebensbedingungen, die für seine Existenz nötig sind, in seiner angeborenen Widerstandsfähigkeit Krankheiten gegenüber abgeschwächt wird.

8) Die Abschwächung der Widerstandsfähigkeit des Organismus äußert sich darin, daß seine Fähigkeit, die Wechselwirkung zwischen

einzelnen Zellen und Zellkomplexen und damit auch die Zusammensetzung seiner Körpersäfte nach Bedarf zu verändern, mehr oder weniger abgeschwächt oder ganz verloren wird.

9) Durch die Abschwächung oder den Verlust der erwähnten Fähigkeit des Organismus, die Zusammensetzung seiner Körpersäfte jedem Reize, der eine bestimmte Grenze nicht überschreitet, entsprechend zu verändern, wird auch seine Fähigkeit, die eingedrungenen Krankheitserreger und deren Stoffwechselprodukte zu neutralisieren, abgeschwächt oder ganz verloren.

10) Da aber in dieser Fähigkeit des Organismus, als Ganzes die Zusammensetzung seiner Körpersäfte, jedem Reize entsprechend, zu verändern, die Ursache der Immunität, ihrer Spezifität und Verschiedenartigkeit ist, wird durch ihre Abschwächung oder Verlust auch die Immunität des betreffenden Organismus abgeschwächt oder verloren, und er wird für die verschiedensten Krankheiten mehr oder weniger disponiert. Die Disposition muß deshalb eine allgemeine sein.

11) Aus der Tatsache, daß die Disposition eine allgemeine sein muß, folgt auch, daß bei schlechten hygienischen Verhältnissen irgendeiner Gegend Epidemien der verschiedensten Infektionskrankheiten in dieser Gegend ausbrechen müssen, was auch durch die vorausgegangene Statistik bestätigt wird.

Nachdruck verboten.

Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal

[Aus dem Research Laboratory, Board of Health, New York.]

Von Alfred F. Hess, M. D.

Vor einem reichlichen Jahre erschien in dieser Zeitschrift¹⁾ ein Aufsatz von F. Dieterlen vom Kaiserlichen Gesundheitsamt, welcher auszugsweise Versuche über das Aufwärtswandern von Bakterien im Verdauungskanal wiedergab. Etwas später wurden diese Versuche ausführlich in den Tuberkulosearbeiten des Gesundheitsamts beschrieben²⁾. Da ich mich für diese Frage bereits seit einiger Zeit besonders interessiere, und da ich den Wert der aus dem genannten Institut kommenden Arbeiten voll zu schätzen weiß, las ich die betreffenden Aufsätze besonders aufmerksam durch. Der Verfasser faßt die Ergebnisse zahlreicher Versuche in folgenden Schlußsätzen zusammen: „Keime (*Prodigiosus*-, Geflügelcholera- und Tuberkelbacillen), die Kaninchen per Klysma verabreicht werden, steigen im Verdauungskanal entgegen der Peristaltik durch Magen und Oesophagus bis in den Schlund empor und finden sich nach ein bis vier Stunden regelmäßig im Respirationstraktus.

1) Dieterlen, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. 1907. p. 885.

2) Dieterlen, Tuberkulosearbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Heft 9. 1908.

Wird den Keimen der Weg durch den Verdauungskanal durch Unterbindung des Oesophagus verlegt, so sind die Keime nach dieser kurzen Zeit für gewöhnlich im Respirationstraktus nicht nachweisbar.“ Dieterlen weist darauf hin, daß „die vorliegenden Resultate für die Lehre von den Infektionswegen der Tuberkulose von einschneidender Bedeutung sind.“ Ferner stellt er fest, daß die geschilderte Erscheinung vermutlich auch bei anderen Tieren zu beobachten ist.

Gleichwohl schien es mir, als ob diese Schlüsse durch die Versuchsergebnisse nicht durchaus fest begründet wären, da man sie in verschiedener Richtung auch anders deuten könnte. In der Tat mußte es höchst auffällig erscheinen, daß Kaninchen per rectum injizierte Bakterien binnen einer einzigen Stunde bis zum Oesophagus aufsteigen sollten, was einer Entfernung von gegen 16 Fuß entspricht. Weiterhin ließ sich durch nähere Untersuchungen nachweisen, daß in einigen Fällen der Urin, in anderen die Mesenterialdrüsen und selbst der Uterus die injizierten Bakterien enthielt. Dies wies darauf hin, daß die Bakterien möglicherweise auf dem Wege des Blutstroms in die Organe gelangt waren, auch wenn in sämtlichen aus dem Herzblut angelegten Kulturen die Abwesenheit der betreffenden Bakterien festgestellt werden konnte. Nebenbei sei bemerkt, daß diese letztere Behauptung des Verfassers nicht vollkommen zutreffend ist, da man bei Versuch 9 verzeichnet findet, daß Geflügelcholera aus dem Herzblut in Reinkultur gezüchtet wurde. Nach dem Vorgange von Uffenheimer führte Dieterlen eine Reihe rectaler Injektionen bei Kaninchen aus, denen er vorher den Oesophagus unterbunden hatte. Die aus diesen Versuchen gezogenen allgemeinen Schlüsse habe ich in der oben wiedergegebenen Zusammenfassung bereits aufgeführt. Aber auch hier konnten wir uns des Gefühls nicht erwehren, als ob die Resultate nicht doch sehr wenig einwandfrei wären. In der angegebenen Weise wurden 6 Versuche ausgeführt; darunter war einer mit Tuberkelbacillen, welcher ausscheidet, da diese Mikroorganismen bei der Sektion nur im Dickdarm gefunden wurden; bei einem anderen mit Geflügelcholera wurden diese Bakterien merkwürdigerweise nur im Dickdarm und Urin gefunden. Wie sollen wir uns das Vorkommen der Bakterien im Urin trotz Unterbindung des Oesophagus erklären? Eine Erklärung ist nicht gegeben, aber diese Erscheinung kann doch nicht die Folge eines Aufwärtswanderns in dem künstlich verschlossenen Verdauungstraktus sein. Die 4 anderen Versuche dieser Art waren mit *B. prodigiosus* ausgeführt worden. Bei 2 von ihnen waren die Bacillen weder oberhalb noch unterhalb der Unterbindungsstelle am Oesophagus zu finden gewesen; sie sind also in keiner Beziehung beweiskräftig. Bei den beiden anderen wurden sie allerdings nur unterhalb der Ligatur gefunden; aber bei dem einen dieser positiven Versuche (Versuch 14) wurden sie auch aus den Lungen, dem Blut und den Mesenterialdrüsen gezüchtet, obwohl der Weg vom Oesophagus durch den Pharynx nach den Lungen vollkommen versperrt war. Wir können dem Verfasser durchaus nicht beipflichten, wenn er bezüglich der Ergebnisse dieser Versuche sagt: „es war also tatsächlich der Beweis erbracht, daß die Keime im Verdauungskanal emporgestiegen sind“ und „angesichts der Resultate der Kaninchenversuche besteht selbst für den unbefangenen Beobachter kein Zweifel mehr, daß die Keime vom Darm nach oben in den Magen und Oesophagus gelangen und von hier den Respirationstraktus infizieren können. Jedenfalls ist für Kaninchen der einwandfreie Beweis erbracht.“

Mit Rücksicht auf die mangelhafte Uebereinstimmung dieser verschiedenen Versuche unternahmen wir einige ähnliche.

Die zuerst angewendete Methode bestand kurz darin, daß wir das Tier nach der Injektion sorgfältig festgebunden hielten, damit es sich nicht belecken konnte; nach verschieden langer Zeit wurde es getötet, und unter streng aseptischen Kautelen wurden aus dem Inhalt des Verdauungstrakts, aus den mazerierten Organen und dem Herzblut zahlreiche Kulturen angelegt.

Die von uns bei den Versuchen beobachtete Technik unterscheidet sich von der anderer Experimentatoren in 2 Punkten; erstens wurden große Blutmengen aus der Ohr- oder Jugularvene vor der Tötung des Tieres abgezapft, um dasselbe zu untersuchen, und zweitens wurde genau darauf geachtet, daß die aus dem Inhalt der Hohlorgane angelegten Kulturen mit Blut nicht verunreinigt wurden. Im folgenden sei eine kurze Uebersicht über das Ergebnis der Versuche gegeben:

Unter 4 Versuchen, bei denen die Tiere binnen 3 Stunden nach der Rectalinjektion getötet wurden, konnten bei dreien Bakterien oberhalb der Ileocöcalklappe nicht nachgewiesen werden; bei einem konnten sie nach 70 Minuten im Dünndarm gefunden werden; nie waren sie aus dem Magen oder dem Oesophagus zu züchten.

Bei 4 weiteren Versuchen, bei welchen bis zur Tötung der Tiere 24 Stunden verstrichen, konnten in einem Falle durch Impfung Tuberkelbacillen als im Magen vorhanden nachgewiesen werden; in den 3 anderen wurden die Bakterien im Verdauungstraktus nicht gefunden.

Bei den verschiedenen Versuchen wurden Bakterien in den Lungen, Lebern, Nieren, Urin und Mesenterialdrüsen gefunden.

Bei 3 von 4 Versuchen wurde der *B. prodigiosus* 3 Stunden und einmal 24 Stunden nach der Rectalinjektion aus dem Blut gezüchtet. Bei 2 Versuchstieren, welche daraufhin geprüft wurden, konnten Tuberkelbacillen 24 Stunden, nachdem sie in das Rectum eingeführt worden waren, im Blut nachgewiesen werden. Es waren 45, bzw. 50 mg einer bovinen Kultur injiziert worden, und in beiden Fällen wurden je 6 Meerschweinchen mit 2—3 ccm Blut geimpft.

Bei keinem dieser Versuche ließen sich die Bakterien in jeder Blutprobe nachweisen, und bei vielen erwies sich das Herzblut steril.

Auch ein klinischer Versuch wurde angestellt. Eine „Typhusträgerin“, von welcher bekannt war, daß sie seit einigen Jahren bereits Typhusbacillen in ihrem Stuhl hat, und zwar manchmal fast in Reinkultur, zurzeit aber nur zu etwa 10 Proz. der gesamten Stuhlbakterien, wurde zu dem Versuche benutzt. Wenn die Bakterien vom Darm aufwärts wandern, müßten Typhusbacillen im Magen zu finden sein. Diese Patientin mußte 8 Stunden lang fasten; nach Ablauf dieser Zeit wurde ihr Mund mit steriler Kochsalzlösung ausgespült und dies Spülwasser auf Typhusbacillen untersucht. Auch ihr Magen, der sich nach der angegebenen Zeit als leer erwies, wurde in gleicher Weise ausgespült, und das Spülwasser, das eine neutrale Reaktion aufwies, ebenso auf Conradi-Dri-galski-Platten verarbeitet. Keine der betreffenden Flüssigkeiten enthielt Typhusbacillen; allerdings auch keine Colibacillen.

Aus diesen Versuchen, welche anderweit mit Einzelheiten veröffentlicht werden sollen, möchte ich schließen, daß Kaninchen rectal injizierte Bakterien in lebensfähigem Zustand nicht über den Dünndarm hinaufwandern, und daß sie auf diesem Wege in den Respirationstraktus nicht ge-

langen können. Ihr Vorhandensein im Dünndarm kann vielleicht bisweilen weniger auf eine Antiperistaltik, als auf eine Ausscheidung aus dem Blut oder der Galle zu beziehen sein. Wenn man sie ferner durch Versuche in den Lungen, der Luftröhre und dem Oesophagus hat nachweisen können, so sind sie in diese Organe auf dem Wege des Blutstroms gelangt.

Nachdruck verboten.

Ueber kongenitale Tuberkulose beim Rindvieh.

Von **Arvid M. Bergman**, Malmö.

Mit 2 Figuren.

Tuberkulose von zweifellos kongenitaler (hereditärer) Natur wurde das erste Mal beim Rindvieh im Jahre 1884 von John¹⁾ bei einem 8 Monate alten Fötus beobachtet. Dann ist Tuberkulose bei Rinderfötus und bei neugeborenen Kälbern von Bang, Csokor, Nocard, Klepp, Mac Fadyean, Höyberg u. a. beobachtet und beschrieben worden. Berichte über die wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiet finden sich in „Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie“ von Lubarsch und Ostertag²⁾.

Einzelbeobachtungen über kongenitale Tuberkulose beim Rindvieh gehören eben nicht zu den Seltenheiten. Csokor und Klepp haben sogar eine größere Zahl von Fällen untersucht, letzterer 35 bei neugeborenen Kälbern. In dem Schlachthause und den Fleischbeschauämtern Malmö gibt es oft Gelegenheit, solche Fälle zu beobachten, weil es erlaubt ist, in der Stadt neugeborene Kälber zu schlachten, sowie auch Fleisch solcher Kälber einzuführen, und weil die Fleischer in großer Ausdehnung von dieser Erlaubnis Gebrauch machen. In den Jahren 1904—1908 habe ich 108 Fälle von kongenitaler Tuberkulose beim Rindvieh, davon 4 beim Fötus und die übrigen bei höchstens 3 Tage alten Kälbern beobachtet. Die 4 Fälle beim Fötus wurden zufällig angetroffen. Was die Fälle bei neugeborenen Kälbern betrifft, so sind sie bei der ordentlichen Fleischschau gewonnen worden. So oft Tuberkulose bei einem solchen Kalb beobachtet worden ist, wurde dieses nebst allen Eingeweiden aufbewahrt, und ich nahm dann bei Gelegenheit eine genaue Untersuchung desselben vor. Die größte Zahl von Fällen stammt aus den Fleischbeschauämtern. Diese Kalbskörper waren mit allen Organen außer dem Magen, den Därmen und zuweilen der Milz versehen. Die Gekrösedrüsen habe ich demnach nicht untersuchen können. Nach Beobachtungen in den Fällen, die aus dem Schlachthause stammen, sind indessen diese Drüsen höchst selten Sitz kongenitaler Tuberkulose.

Behufs Feststellung der Diagnose wurde die mikroskopische Untersuchung der aufgefundenen Herde sowie Impfung von Versuchstieren vorgenommen. Für die mikroskopische Untersuchung wurden die Organe in Zenkersche Lösung oder in Formalin eingelegt und, wenn nötig, entkalkt, dann in Paraffin eingebettet und in üblicher Weise in Schnitte zerlegt. Die Schnitte wurden, wenn es sich um histologische Untersuchung handelte, mit Hämalau und Eosin oder mit Hansens Eisenhämatoxylin und van Giesons Lösung, wenn es sich um Nachweis von Tuberkelbacillen handelte, mit Ziehls Karbolfuchsin gefärbt, mit Schwefelsäure (5 Proz.) entfärbt und mit Löfflers

1) John, Ein zweifelloser Fall von kongenitaler Tuberkulose. (Fortschr. d. Med. Bd. 3. 1885. p. 98.)

2) Jahrg. 2. 1895. p. 267; Jahrg. 6. 1889. p. 307 u. Jahrg. 1904/05. p. 582.

Methylenblau nachgefärbt. Mitunter wurden zum Nachweis von Tuberkelbacillen auch nur einfache Ausstrichpräparate angefertigt und nach Ziehl-Gabbet gefärbt. Impfversuche wurden nur dann ausgeführt, wenn das Material ganz frisch erhalten und aseptisch entnommen werden konnte. Es gilt das nur für im Schlachthaus erhaltene Föten und dort geschlachtete Kälber. Die Herde wurden mit steriler Schere zerschnitten, in steriler physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und in die Bauchhöhle von Kaninchen oder Meerschweinchen (jedesmal 2) injiziert. Versuchstiere, welche starben, habe ich obduziert und dabei besonders darauf geachtet, ob es sich auch um Impftuberkulose handelte. Die mikroskopische Untersuchung auf Tuberkelbacillen ist in jedem Falle gemacht worden.

Tuberkulose beim Fötus.

No. 1. Der Fötus war 78 cm lang, hatte Haare auf dem Maul, über den Augen, auf den Hornanlagen und der Schwanzspitze, aber nicht auf dem Rücken. Er dürfte etwas mehr als 7 Monate alt gewesen sein. In zwei Portaldrüsen, einer Bronchialdrüse und zwei Mesenterialdrüsen fanden sich hanfkorn- bis erbsengroße, graue Knötchen mit graugelbem Zentrum, das weißliche, unregelmäßige, harte Körner enthielt, die in Salzsäure unter Gasbildung sich lösten. Bei genauer mikroskopischer Untersuchung waren keine Herde in anderen Teilen des Körpers, also auch nicht in den Mediastinaldrüsen, zu entdecken. Die Herde in den verschiedenen Organen scheinen von ungefähr gleichem Alter zu sein. In einer Portaldrüse wurden Tuberkelbacillen mikroskopisch nachgewiesen. In Schnittpräparaten der Portaldrüsen fanden sich typische Tuberkel mit zentraler strukturloser, vereinzelte Kernfragmente enthaltender Zone und minder periphere, gefäßlose Zone, bestehend aus Anhäufung von Fibroblast und Rundzellen mit recht zahlreichen Riesenzellen. Zwei Kaninchen, die mit Material aus den Bronchialdrüsen intraperitoneal geimpft worden waren, starben an Tuberkulose.

Die Mutter dieses Fötus war 6 Jahre alt, mager, mit struppigem Haarkleid, fest ansitzender Haut und eingefallenen Augen. Sie hatte Tuberkulose in Lungen, Leber, Nieren, Euter und zugehörigen Lymphdrüsen, in den Retropharyngeal-, Submaxillar-, Sternal-, Lumbal- und inneren Darmbeindrüsen, im Oesophagus, auf der Pleura, im Peritoneum, sowie in der Gebärmutter. Die Herde in der Gebärmutter waren ganz klein und nicht zahlreich. Sie saßen in den Kotyledonen innerhalb der Zottenregion. Auf Schnitten hatten sie eine unregelmäßige Form. Sie enthielten Tuberkelbacillen und wenige Riesenzellen. Im Zentrum waren sie verkäst, enthielten aber keine Verkalkungen. Der Fötus war offenbar von der Placenta aus infiziert worden.

No. 2. Der Fötus war 60 cm lang und hatte Haare über den ganzen Körper. Alter 8 Monate. In den Portallymphdrüsen fanden sich kleine, mit dem unbewaffneten Auge kaum sichtbare gelbgraue Herde, die bei mikroskopischer Untersuchung alle für Tuberkel charakteristischen Formelemente und Tuberkelbacillen enthielten. Sie waren im Zentrum verkäst, enthielten aber keinen Kalk. Andere krankhafte Veränderungen waren beim Fötus nicht nachweisbar. Zwei Meerschweinchen, die mit Material aus diesen Herden intraperitoneal geimpft wurden, starben an Tuberkulose.

Die Mutter war eine kleine, 10 Jahre alte abgemagerte Kuh. Sie hatte ausgebreitete Tuberkulose in den Lungen, sowie Tuberkulose in allen Bronchial-, Mediastinal- und Portaldrüsen. Das Fleisch war wässerig. Keine tuberkulösen Veränderungen waren auf den serösen Häuten, in der Gebärmutter und in der Placenta trotz genauester makroskopischer Untersuchung, wobei die Kotyledonen in Schnitte zerlegt wurden, nach-

weisbar. Trotzdem ist es wegen der Lokalisation der Krankheit beim Fötus wahrscheinlich, daß der Weg der Infektion durch die Placenta gegangen ist.

No. 3. Fötus 51 cm lang. Haare auf den Augenlidern und dem Maul, verknöcherte Diaphysen, Testes im Hodensack. Alter 6 Monate. In der Leber fanden sich etwa 10 stecknadel- bis erbsengroße graue und graugelbe Knötchen, weiße Kalkkörner von unregelmäßiger Form enthaltend. Herde von derselben Form und Größe wurden in den Portal-, Mediastinal-, Bronchial- und oberflächlichen linksseitigen Cervicaldrüsen gefunden. Die Herde in den Portallymphdrüsen zeigten histologisch typische Tuberkeln und enthielten Tuberkelbacillen. Mit Material aus einer Bronchiallymphdrüse wurden zwei Kaninchen intraperitoneal geimpft, sie starben an Tuberkulose.

Die Mutter des betreffenden Fötus war eine 8 Jahre alte Kuh, ziemlich gut genährt. Sie hatte ältere Tuberkuloseherde in Lungen und Leber sowie in den Lymphdrüsen dieser Organe, ferner in den Glandulae retropharyngeales, sternales, lumbales und iliacae internae, auf Pleura und Peritoneum wie auch in der Gebärmutter. In dem letztgenannten Organ erschienen zahlreiche stecknadelkopfgroße, infarktähnliche, im Zentrum verkäste, aber nicht verkalkte gelbe Herde, welche hauptsächlich in den Kotyledonen ihren Sitz hatten. Mehrere saßen in der Zottenregion dieser, also auf die fötale Placenta übergreifend. Sie enthielten Riesenzellen und Tuberkelbacillen. Die Infektion des Fötus war offenbar auf diesem Wege erfolgt.

No. 4. Der Fötus war 48 cm lang. Die Diaphysen der Röhrenknochen waren verknöchert, Testes lagen im Hodensack, Fühlhaare fanden sich auf den Lippen und über den Augen. Der Fötus dürfte 5 Monate alt gewesen sein.

Das subkutane und intramuskuläre Bindegewebe war über den ganzen Körper ödematös durchtränkt. Die Bauchwand war aus diesem Grunde 2—3 cm dick. Der Bauch war stark aufgetrieben. Die Bauchhöhle enthielt etwa $\frac{1}{2}$ Liter klarer Flüssigkeit. Mesocolon war ödematös. In 4 Mesenterialdrüsen fanden sich erbsengroße, graugelbe, größtenteils verkäste Herde mit gelbweißen Verkalkungen im Zentrum. Die Leberoberfläche war uneben, aber glatt. Ihre Farbe war gelbgrau außer an gewissen größeren Stellen, wo sie durch Blutfülle rotgelb war. An einer Stelle war eine kleine subkapsuläre Blutung erkennbar. Die Portallymphdrüsen waren groß — eine von der Größe einer Haselnuß — und beim Schneiden zäh. Sie enthielten mehrere verkäste Herde von der Größe einer kleineren Erbse. In einer fand sich eine kleine Verkalkung. Die Milz enthielt drei hanfkorngroße Knötchen, die sich über die Fläche des Organs erhoben (Fig. 1). Sie waren zum großen Teil verkäst mit Kalkkörnern im Zentrum.

Auf der inneren Seite der linken Bauchwand, in den Zwischenräumen zwischen den Rippen und in unverkennbarem Zusammenhang mit den Intercostalararterien saßen zwei Knötchen von 6 bzw. 7 mm im Durchmesser (Fig. 2). Das eine war mehr länglich, das andere mehr rund und abgeplattet. Letzteres hatte seinen Sitz in dem Rippenteil des Zwerchfells. Beide enthielten im Zentrum hellgraue, von der Umgebung abgegrenzte Parteen.

Am Herzen fanden sich in der Wand der rechten Herzkammer unter dem Sulcus coronarius zwei graue Knötchen — eins erbsengroß, das andere etwas kleiner — unmittelbar unter dem Epicardium

liegend. Beim Durchschnitt erwiesen sie sich durch eine helle Linie deutlich vom Myocardium getrennt. Jede Lunge enthielt zwei im Zentrum verkäste und teilweise verkalkte Herde von Stecknadelkopfgröße. Herde mit zentraler Verkäsung und Verkalkung waren auch in allen Glandulae

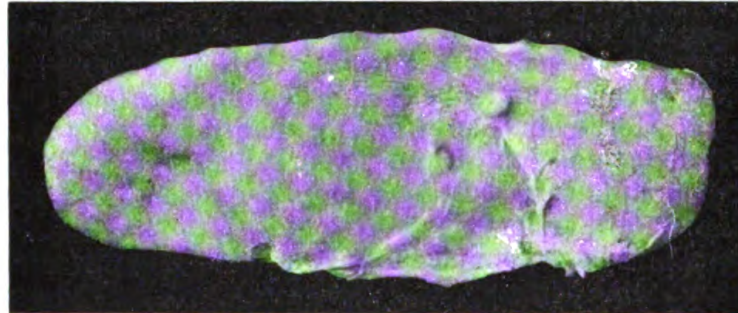


Fig. 1. Milz eines 5 Monate alten Rindviehfötus. Zwei Tuberkeln. Nat. Größe.

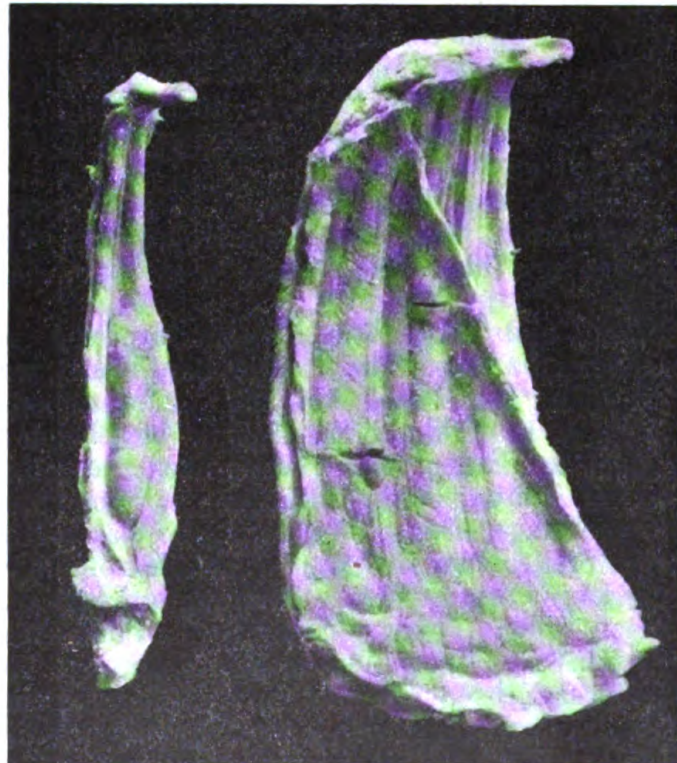


Fig. 2. Neubildungen tuberkulöser Natur in den Intercostalräumen der Bauchhöhle — ein Schnitt in jedes Knötchen angelegt — sowie auf der inneren Seite einer Rippe in der Brusthöhle eines 5 Monate alten Rindviehfötus. Etwas unter der natürlichen Größe.

bronchiales, mediastinales, in den vorderen Gl. sternales, einer Gl. intercostalis, in den Gl. retropharyngeales und cervicales enthalten. Der größte Herd befand sich in der hinteren Mediastinallymphdrüse und war von der Größe einer Haselnuß. In der Brusthöhle an der inneren Seite einer Rippe und dieser folgend fand sich eine 25 mm lange Erhöhung von gleicher Breite, welche auf Durchschnitten rotgrau mit grauem Zentrum erschien. Es war eine deutliche Grenze zwischen dieser und

der Rippe (Fig. 2). In der Diaphyse der Tibia erschien ein gelblicher hanfkorngroßer Herd, von einer roten Zone umgeben.

Herde aus den Lungen, der Milz, dem Herzen, den Intercostalräumen und der inneren Seite der Rippe, sowie aus zwei Lymphdrüsen wurden, in Schnitte zerlegt und mikroskopisch untersucht. Es stellte sich heraus, daß sie alle Tuberkelbacillen und histologisch typische Tuberkeln enthielten. In den Herden aus dem Herzen, den Intercostalräumen und der inneren Seite der Rippe war die regressive Metamorphose am wenigsten fortgeschritten. Die erstgenannten waren offenbar durch Endoarteriitis entstanden. Die betreffenden Arterien waren vollständig thrombosiert. Der ganze Durchschnitt zeigte das Bild eines proliferierenden Gewebes, Lymphocyten und Riesenzellen, sowie zahlreiche Tuberkelbacillen. Peripher fanden sich Teile der ursprünglichen Gefäßwand. Im Herde in der Diaphyse der Tibia wurden auch Tuberkelbacillen nachgewiesen. Mit Material aus einem Herd in der Mesenterialdrüse wurde ein Meerschweinchen und mit Material aus einem der Herde in den Portaldrüsen ein Kaninchen intraperitoneal geimpft. Beide starben an Tuberkulose. Ein Kaninchen, das 3 ccm von der Flüssigkeit aus der Bauchhöhle intraperitoneal erhalten hatte, blieb am Leben. Es wurde 2 Monate nach der Impfung getötet. Bei der Sektion waren keine krankhaften Veränderungen erkennbar.

Die Mutter dieses Fötus war eine 5 Jahre alte, magere Kuh mit Tuberkulose in Lungen, Leber, Nieren und Nebennieren und den dazu gehörigen Lymphdrüsen, in den Tonsillen, in den Glandulae retropharyngeales, mesenteriales, iliaca interna, poplitea sin., sowie auf Pleura und Peritoneum. In der Gebärmutter waren auf den ersten Blick keine tuberkulösen Veränderungen zu entdecken, aber bei eingehenderer Untersuchung wurden solche von Keilform und gelblicher Farbe in der Zottenregion der Kötyledonen beobachtet. Sie enthielten Tuberkelbacillen und Riesenzellen und waren im Zentrum verkäst. Die Fruchthüllen waren ödematös. Der Fötus war offenbar von der Placenta aus infiziert worden.

Tuberkulose bei neugeborenen Kälbern.

Bei den oben erwähnten 104 Kälbern, von denen keines mehr als 3 Tage alt war, hat die Krankheit im Körper die Verbreitung gehabt, wie sie aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht.

In einem jeden der hier angeführten Fälle sind Tuberkelbacillen mittels Ausstrichpräparats in wenigstens einem Herde nachgewiesen worden. In älteren, völlig verkästen Herden mit Verkalkungen ist es nicht immer gelungen, solche nachzuweisen. In etwa 20 Fällen wurden Herde aus Leber, Lungen, Fleischlymphdrüsen, Nieren und Nebenniere histologisch untersucht, und es ergab sich, daß sie Riesenzellen und Tuberkelbacillen enthielten und zentral verkäst waren, wenn sie auch sehr klein waren. Impfung von Versuchstieren zur Sicherstellung der Diagnose wurde nur in 3 Fällen vorgenommen. Die infizierten Tiere starben an Tuberkulose. Meines Erachtens war kein Grund vorhanden, in jedem einzelnen Falle die Impfung vorzunehmen, da die pathologisch-anatomischen Veränderungen leicht erkennbar sind und, wie gesagt, Tuberkelbacillen mikroskopisch nachweisbar waren.

Die Herde waren immer mehr oder weniger verkäst und enthielten in der Mehrzahl der Fälle auch Kalkkörner. Es war dies der Fall auch bei dem nur 5 Monate alten Fötus (No. 4). Wo es eine Verschiedenheit der Entwicklung in verschiedenen Teilen des Körpers gab, bestand diese

No.	Zahl der Fälle	Sitz der Tuberkulose
1—35	35	Lymphoglandula portales.
36—37	2	" " Leber.
38—51	14	Lgl. portales, mediastinales.
52—55	4	" " " Leber.
56—57	22	" " " bronchiales.
77—81	4	" " " " Leber.
82—83	2	" " renales.
84	1	" " Nieren.
85	1	" " axillaris dextra.
86	1	" " bronchiales, renales, Leber, Lungen, Nieren.
87	1	" " " retropharyngeales, Lungen.
88	1	" " mediastinales, cervicales superficiales.
89	1	" " renales, Lungen.
90	1	" " iliaca interna, Leber.
91	1	" " cervicales dext., Lungen, Leber.
92	1	" " retropharyngeales.
93	1	" " bronchiales, poplitea dext.
94	1	" " " axillaris dext. und auf Pleura.
95	1	" " " " cervicales superfic. dext., Leber.
96	1	" " " " iliaca interna, cervicales superfic. sinistra, mesenterici, Lungen, Leber.
97	1	" " " " renales sin., Lungen, Nieren, Diaphyse d. Femur.
98	1	" " " " cervicales inf., axillaris sin.
99	1	" " " " cervicalis superfic. dext., iliaca int., Lungen.
100	1	" " " " renalis dext., axillaris dext. poplitea.
101	1	" " " " cervical. superf. sin., axillaris dext.
102	1	" " " " iliaca interna, renales, Lungen, Leber, Nieren.
103	1	" " " " renales, Leber, Nieren, eine Nebenniere.
104	1	" " " " iliaca interna, Lungen, Leber.

darin, daß die Herde, welche in den Portal- und Mediastinallymphdrüsen lagen, die größten waren, und daß die regressive Metamorphose in ihnen am weitesten vorgeschritten war. In Lungen, Milz, Nieren und Nebenniere liegende Herde waren oft von einer hyperämischen Zone umgeben. Einigemal wurde die Beobachtung gemacht, daß gewisse Lymphdrüsen angeschwollen und saftig waren, und Tuberkelbacillen wurden in denselben nachgewiesen, ohne daß sie dem unbewaffneten Auge sichtbare Tuberkel enthielten. Die in der Nebenniere (No. 103) beobachteten Herde waren 2 an der Zahl und kaum sichtbar. In der Nebenniere auf der anderen Seite fanden sich Blutungen in der Rinde. Tuberkulöse Neubildungen von dem Aussehen und der Lage, wie sie diejenigen hatten, welche im Herzen, an der Brustwand und an der Bauchwand des Fötus No. 4 vorhanden und von der Serosa gedeckt waren, habe ich früher nicht beobachtet.

Stellt man diese 104 Fälle bei Kälbern mit den oben erwähnten 4 beim Fötus zusammen, so wird man die Uebereinstimmung zwischen ihnen finden, daß die Portallymphdrüsen immer ergriffen gewesen sind.

Die Mediastinallymphdrüsen waren 63mal, die Bronchiallymphdrüsen 43-, die Leber 18- und die Lungen 10mal ergriffen. Es ist vorgekommen, daß die Bronchiallymphdrüsen und die Lungen ergriffen waren, ohne daß ein Tuberkelherd in der hinteren Mediastinaldrüse nachzuweisen war, und daß die Lungen ergriffen waren, ohne daß ein Herd, sei es in den Bronchiallymphdrüsen oder in der hinteren Mediastinallymphdrüse, aufgefunden wurde. Serosatuberkulose war sehr selten. Nur ein einziges Mal wurden auf der Pleura costalis tuberkulöse Neubildungen von demselben Aussehen und Bau wie beim älteren Rindvieh beobachtet (94). Knochentuberkulose wurde 2 mal (Fötus 4, Kalb 97) beobachtet. Die Herde haben ihren Sitz in der Spongiosa des Knochens gehabt. Die Verbreitung der Krankheit im Körper geht aus der vorstehenden Tabelle näher hervor. Das Kalb No. 55 war nach Angabe der Zwillings eines Kalbes, das auch untersucht wurde. In dem letzteren waren keine Spuren von tuberkulösen Veränderungen zu entdecken.

In der Placenta von 3 der untersuchten Föten fanden sich Tuberkuloseherde, an der Grenze zwischen Placenta materna und foetalis liegend, so daß Tuberkelbacillen von diesen aus in den Kreislauf des Fötus hineinkommen konnten. Aus diesem Grunde und da die Portallymphdrüsen bei allen Fällen ergriffen waren und oft Herde mit weiter fortgeschrittenen regressiven Veränderungen als die Herde in anderen Teilen des Körpers enthielten, dürfte man schließen können, daß die Tuberkelbacillen in allen diesen Fällen von der Mutter auf den Fötus durch den placentaren Kreislauf übertragen worden sind. Gegen eine germinale Infektion spricht unter anderem die Tatsache, daß alle diese Föten und Kälber normal entwickelt waren.

Das mehr oder weniger allgemeine Vorkommen der kongenitalen Tuberkulose in einer gewissen Gegend muß natürlich von der Verbreitung der Tuberkulose unter den dort befindlichen Kühen abhängig sein. Weil nun dem Malmöer Schlachthaus fast ausschließlich Rindvieh aus dem Regierungsbezirk Malmöhus zugeführt wird, so gibt der Zustand des dort geschlachteten Viehs eine gute Vorstellung von dem Zustand des Viehes in diesem Regierungsbezirk. 65 Proz. der seit 1904 in Malmö geschlachteten Kühe haben Tuberkulose gehabt. In 6,6 Proz. sämtlicher in den Jahren 1905—1908 beobachteten Tuberkulosefälle bei Kühen ist die Krankheit generalisiert gewesen. Die Gebärmuttertuberkulose mit deutlichen makroskopischen Veränderungen in der Gebärmutterschleimhaut ist in 3,2 Proz. von allen Tuberkulosefällen bei Kühen vorgekommen, und 2,1 Proz. von diesen fallen unter die oben erwähnten Fälle generalisierter Tuberkulose. Weil kleine tuberkulöse Veränderungen in der Gebärmutter vorkommen können, ohne bei den ordentlichen Fleischbesichtigungen entdeckt zu werden, ist indessen die Zahl für die Gebärmuttertuberkulose als zu niedrig zu betrachten. Aus vorstehenden Ausführungen ergibt sich, daß 0,42 Proz. von allen Kälbern kongenitale Tuberkulose hatten. Im Regierungsbezirk Malmöhus ist demnach ungefähr 1 Kalb von 200 tuberkulös, wenn es geboren wird. Bei Berechnung dieser Zahl habe ich nur das Material aus dem Schlachthause nicht aus den Fleischbeschauämtern, berücksichtigt.

Die Bedeutung der placentaren Infektion der extrauterinen gegenüber geht hervor aus der nachstehenden Tabelle, die nach im Malmöer Schlachthause gemachten Beobachtungen ausgearbeitet ist. Die angegebenen Altersgrenzen sind für neugeborene Kälber durchaus exakt, für die übrigen Gruppen nur approximativ.

	Alter	Untersucht	Tuberkulös
Neugeborene Kälber	$\frac{1}{2}$ —3 Tage	8 879	0,42 Proz.
Aeltere Kälber	3 Wochen bis 3 Mon.	17 253	1,59 „
Jungvieh	1 Jahr bis $2\frac{1}{2}$ Jahre	6 639	14,18 „
Aelteres Vieh	$2\frac{1}{2}$ Jahre und darüber	29 713	62,64 „

Die kongenitale Tuberkulose beim Rindvieh ist demnach relativ selten, kommt jedoch immerhin so häufig vor, daß sie für die Praxis nicht ohne Bedeutung ist, was bei der Bekämpfung der Rindviehtuberkulose nicht übersehen werden darf.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der Kgl. Tierärztl. Hochschule Stuttgart.]

Von Dr. Gerhard Schmid.

Mit 2 Figuren.

Inhalt.

- A. Einleitung und literarische Behandlung.
- B. Eigene Untersuchungen.
 - I. Herkunft der Stammhühner und Versuchstechnik.
 - II. Beschreibung der einzelnen Fälle.
 - 1. Impfungen mit unfiltriertem Material (F. I—X) und Organübertragungen (F. VII und VIII).
 - 2. Filtrationsversuche (F. III—VIII).
 - 3. Kontrollversuche.
 - III. Tabellarische Uebersicht.
- C. Zusammenfassung und Ergebnis der Untersuchungen.

A. Einleitung und literarische Behandlung.

Die als Epithelioma contagiosum oder Geflügelpocken bezeichnete Krankheit unseres Hausgeflügels hat trotz ihres verhältnismäßig seltenen Auftretens schon den Gegenstand vieler eingehender Untersuchungen gebildet. Schreibt doch Burnet (4) hierüber: „C'est une excellente maladie d'étude, et par le nombre des questions, qu'elle soulève et par les facilités, qu'elle présente pour les recherches expérimentales au laboratoire.“

Und in der Tat ist das Epithelioma contagiosum der Vögel besonders in neuerer Zeit durch die Arbeiten von Marx und Sticker (24) und daran anschließend zahlreicher anderer Autoren immer mehr in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses gerückt.

Aber auch in der Literatur früherer Zeiten wird häufig der Geflügelpocken Erwähnung getan.

Nach Heusinger (13) waren dieselben schon den alten Indiern bekannt, von denen ganz besonders die große Infektionsfähigkeit der Krankheit hervorgehoben wird.

Spinola (36) stellt im Gegensatz zu verschiedenen älteren Autoren [Bonfatti (3), Rohlwes (33) und Klein (20)] die Ansicht auf, daß die Pocken des Geflügels nicht identisch seien mit denen anderer Tiere.

Er sagt darüber: „Zurzeit läßt sich nicht entscheiden, was es für eine Bewandnis mit den Pocken unseres Hausgeflügels habe; doch ist es nicht unwahrscheinlich, daß sie den blasigen Ausschlägen resp. der Aphthenseuche angehören.“

Bollinger (2) berichtet über eine Geflügelseuche, die in Form eines pockenähnlichen Exanthems auftrat und sich durch eminente Kontagiosität und Bösartigkeit auszeichnete. Neben den hauptsächlich an den unbefiederten Stellen des Kopfes auftretenden Pocken beobachtete Bollinger bei natürlicher und künstlicher Infektion auch flache, beetartig umschriebene Eruptionen auf der Maul- und Rachenschleimhaut, die sehr rasch verkästen und einige Ähnlichkeit mit Diphtherieschorfen besaßen. Als Begleiterscheinung trat häufig katarrhalische Entzündung sämtlicher Kopfschleimhäute, besonders eiterige Conjunctivitis, sekundäre Panophthalmie, sowie eine eiterige Entzündung der Nasenschleimhaut auf. Nach Bollinger hat das Epithelioma contagiosum eine große Ähnlichkeit mit dem Molluscum contagiosum des Menschen; jedoch gelang es ihm nicht, in den Geschwülsten etwas zu entdecken, was mit einigem Rechte als Ansteckungsstoff oder nur als in dieser Richtung verdächtig hätte bezeichnet werden können.

Röll (32) beschrieb als Geflügelpocke eine Krankheit, die hauptsächlich die unbefiederten Teile des Kopfes befiel. Die Krankheit wurde dadurch häufig tödlich, daß der Parasit in der Mundhöhle, im Rachen und im Kehlkopf sich festsetzte und dort bedeutende diphtherieähnliche Zerstörungen veranlaßte. Also schon Röll führt die diphtherieähnlichen Krankheitserscheinungen auf den Schleimhäuten auf dasselbe ursächliche Agens zurück, das auch die Pocken erzeugt.

Nach Friedberger (9) kommt bei Hühnern und Tauben eine croupös-diphtherische Entzündung der Maulschleimhaut vor, die häufig von der Maulhöhle auf den Schnabelwinkel und von hier auf die äußere Haut übergreift.

Loir und Ducloux (23) beobachteten gelegentlich eines Diphtherieausbruchs unter Hühnern und Tauben in Tunis auch die Pocken. Dieselben traten in Form warzenartiger Pusteln auf und hatten nach Ansicht der Verfasser mit Diphtherie nichts zu tun.

Rivolta und Delprato (31) bezeichneten die Taubenpocken als „Epitheliomycosis nodulosa“ für den Fall, daß die Krankheit in der Cutis und als „Stomatitis crouposa“, wenn die Krankheit in der Maulschleimhaut ihren Sitz hatte. Als Urheber dieser Veränderungen fanden sie einen mit dem Namen „Epitheliomyces“ belegten pflanzlichen Parasiten. „Die Epitheliomycosis ist immer nodulös auf der Cutis und fast immer croupös auf der Mucosa besonders des Mundes und des Larynx der Hühner und Tauben.“

Zürn (38) führt als Ursache der bei Hühnern vorkommenden knotenartigen, zuweilen pustulösen Ausschläge an Kamm und Ohren Gregarinen an. Die Geflügelpocken sind nach Zürn gleichzeitig verbunden mit diphtherischer Rachen- und Maulentzündung.

Csokor (7) sagt auf Grund seiner Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels, daß der Erreger desselben in der Geschwulst zu suchen ist, daß es sich aber nicht mit Sicherheit feststellen lasse, ob er zu den Gregarinen gehöre oder nicht.

Pfeiffer (27) kommt nach Vornahme zahlreicher Impfungen und Rückimpfungen durch Beobachtung des klinischen Verlaufes und des mikroskopischen Befundes zu dem Resultat, daß alle Krankheitsformen,

die bisher als bacillär-croupös-diphtherische Schleimhauterkrankung, als Gregarinendiphtherie, Geflügelpocken, Krebs, Epitheliom, Psorospermienkatarrh etc. bezeichnet worden sind, auf eine ätiologische Einheit zurückzuführen sind. Er sagt, „daß hier eine Konfusion in bezug auf die Nomenklatur und in der klinischen Abgrenzung des Krankheitsbildes herrscht, wie kaum auf einem anderen Gebiete der Pathologie“. Pfeiffer beschreibt alle hier in Frage kommenden Krankheitsprozesse als Flagellatendiphtherie.

Reinemann (29) erwähnt eine Geflügelseuche, die er als Gregarinoase des Federviehes bezeichnet. Bei Puten trat das Leiden in der Form eines Nasen- und Augenkatarrhs mit nachfolgenden Geschwülsten auf. Bei Hühnern war die Maul- und Rachenhöhle, der Schlund- und Kehlkopf, sowie der obere Teil der Luftröhre Sitz der Krankheit. Bei einzelnen Tieren bildeten sich so bedeutende diphtherische Auflagerungen am Gaumen, daß der Schnabel nicht mehr geschlossen werden konnte.

Mingazzini (25) fand in den Darmepithelien von Blaps, die in einem mit Taubenpocken infizierten Stalle lebten, einen rundlichen Organismus, der mit den Elementen, die als die Körper des *Molluscum contagiosum* bezeichnet werden, große Ähnlichkeit aufwies. (Es ist dies ein von Schneider mit dem Namen *Chytridiopsis socius* belegter und zu den Pilzen gezählter Parasit.) Mingazzini sammelte die an Sporen reichen Exkremente dieser Blaps, hob sie in feuchter Erde auf und vermochte damit bei zwei jungen Tauben auf der Haut Pockenknötchen hervorzurufen. Es soll demnach, wie Mingazzini annimmt, der auf der Oberfläche der Pocken nicht mehr infektiöse, erwachsene Parasit erst in dem Körper der Blaps Sporen bilden, die dann imstande sind, wieder Tauben zu infizieren.

Sanfelice (35) wies durch eingehende Untersuchungen die Irrigkeit der Anschauungen von Mingazzini nach und züchtete, von den Mikrophyten auf der Haut der Tauben ausgehend, Blastomyceten, die in Reinkultur in die Augenlider von jungen Tauben eingimpft, die typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen der Taubenpocken hervorriefen. Er schließt aus diesen Erfolgen, daß zweifellos pathogene Blastomyceten als Ursache der Taubenpocken anzusehen sind.

Salmon (34) sucht die Erreger der Pocken in Psorospermien oder Blastomyceten und meint, daß es noch einer genauen Untersuchung nach den neuesten Methoden bedürfe, um zu entscheiden, ob die Erreger der Geflügelpocken auch Erkrankungen der Mundhöhle verursachen können oder ob die bei den „chicken pox“ häufigen croupartigen Veränderungen durch Diphtheriebakterien erzeugt werden.

Polowinkin (28) prüfte die Versuche von Sanfelice nach und zeigte, daß man es bei den durch Blastomyceten hervorgerufenen Geschwülsten mit einem gewöhnlichen entzündlichen Granulom zu tun habe. Die Einlagerungen in den Epithelzellen bei *Epithelioma contagiosum* sind nach Polowinkin als degenerative Prozesse der Zellen aufzufassen. Polowinkin stellte außerdem bei den erkrankten Tauben trübe Schwellung der parenchymatösen Organe fest und fand in den Geschwülsten, im Blute und in den Organen kleine Stäbchen, die für Sperlinge und Tauben tödlich wirkten.

Alle diese bisher geäußerten Ansichten über die Erreger des *Epithelioma contagiosum* wurden hinfällig durch die Resultate der Arbeiten von Marx und Sticker (24), die der Erforschung dieser Geflügelkrankheit neue Bahnen wiesen. Sie stellten durch zahlreiche Versuche

fest, daß das Virus des Epithelioma contagiosum filtrierbar ist, d. h. daß es Berkefeld-Filter passiert, dagegen durch Porzellanfilter zurückgehalten wird. Es konnte demnach keiner der von den früheren Autoren beschriebenen Parasiten als Erreger in Betracht kommen. Weiterhin fanden Marx und Sticker, daß dieses Virus gegen Eintrocknen, gegen die Einflüsse von Licht, höhere oder niedere Temperaturen und Chemikalien eine große Widerstandsfähigkeit besitzt. Das Ueberstehen einer einmaligen, ausgedehnten Erkrankung soll Immunität verleihen.

Apolant (1) beschäftigte sich hauptsächlich mit den Zelleinschlüssen, von denen er zwei Arten beschreibt: Die den Molluscumkörperchen gleichenden Vogelpockenkörperchen und die nach Benda bezeichneten Bendaschen Körperchen. Er betrachtet diese letzteren als Degenerationsprodukte des Kernes, die ersteren als Degenerationsprodukte des Protoplasmas. Ein direkter Zusammenhang zwischen beiden besteht nicht.

Juliusberg (16) konnte feststellen, daß die Inkubationszeit bei filtriertem Virus das 2—3-fache der gewöhnlichen Inkubationsdauer betrug und erklärte sich diese Erscheinung in der Weise, daß das filtrierte Material das Virus in einem früheren Entwicklungsstadium enthalte und dasselbe bis zur Infektionsfähigkeit noch ein gewisses Wachstum durchzumachen habe. Im Gegensatz zu Marx und Sticker sagt Juliusberg, daß das Kontagium durch fortgesetzte Tierpassage mitigiert und allmählich avirulent werde.

Streit (37) erwähnt in seiner Beschreibung der in Amerika „Roup“ genannten Geflügelkrankheit, daß er bei zwei Hühnern neben Diphtheriemembranen an den Backen, Lidrändern und Nasenöffnungen Bildung von Tumoren in der äußeren Haut beobachtet habe. Diese Tumoren wurden stechnadelkopf- bis kirschkerngroß; die Federchen an ihrem Sitze gingen bald verloren und es bestand ihre Oberfläche dann aus grauen, trockenen Schuppen. Sie standen mit den Pseudomembranen der Schleimhäute in direktem Zusammenhang und wurden durch eine trockene, bröckelige Masse gebildet. Streit hebt nun allerdings hervor, daß kein einziger Fall von Epithelioma contagiosum zu seiner Beobachtung gekommen sei. Aber der ganzen Beschreibung nach läßt sich die Vermutung doch nicht von der Hand weisen, daß es sich hier tatsächlich um Geflügelpocken gehandelt hat, was auch Carnwath annahm.

Nach Hutyra und Marek (14) entstehen sowohl bei Diphtherie als bei Pocken plattenartige Auflagerungen auf den Schleimhäuten. Bei Diphtherie erkranken zuerst die Schleimhäute, bei den Pocken meist zuerst die Haut. Größere Knoten auf der Haut entstehen stets durch das Pockenvirus. Ob die gleichzeitige Erkrankung der Schleimhäute sich infolge einer Sekundärinfektion einstellt, oder ob sie durch denselben Ansteckungsstoff hervorgerufen wird, lassen Hutyra und Marek dahingestellt.

Klee (19) hält die Geflügelpocken für eine selbständige Krankheit, die nicht selten unter diphtherischen Erscheinungen verläuft. In den Krankheits- und Sektionsberichten der Geflügelbörse schildert er ein ausnahmsweise bösartiges Auftreten der Geflügelpocken mit Warzenbildung und diphtherischen Herden auf der Maulschleimhaut, dazu allgemeiner Hautentzündung. Häufig trat infolge der Warzen Verlust des Sehvermögens und Tod nach 4—5 Tagen ein.

Auch Reischauer (30) erwähnt neben den Erkrankungen der Haut als weiteres wichtiges Symptom der Geflügelpocken die Affektionen der

Schleimhäute des Kopfes, die zu diphtherieähnlichen Membranen am Gaumen, Rachen und Kehlkopf führen und häufig zu Verwechselungen Veranlassung geben. „Die Krankheit unterscheidet sich weder klinisch noch histologisch noch ätiologisch von den übrigen Pockenarten und ist demnach den echten Pocken, der Variolagruppe und der Ovine als dritte selbständige Form an die Seite zu stellen.“ Reischauer schlägt daher den Namen „Avine“ vor.

Loewenthal (22) konnte mit Blut und Leberbrei von erkrankten Tieren wiederholt, aber nicht regelmäßig, typische Pocken erzeugen. Das Virus kreist seiner Ansicht nach im Blute. Die durch Ueberstehen der Krankheit erworbene Immunität ist eine kurze; schon nach 2 Monaten können die Tiere aufs neue von Pocken befallen werden. Loewenthal beobachtete auch die charakteristischen, zitronengelben Beläge, die manchmal fast die ganze Mundhöhle ausfüllen. Durch Verimpfung von Pockenmaterial ließen sich auf der skarifizierten Schleimhaut leicht diese Veränderungen hervorrufen.

Burnet (4) nimmt an, daß unter natürlichen Verhältnissen das Virus der Geflügelpocken in kleinen Mengen in die Blutbahn eindringt und sich an den Lieblingsstellen festsetzt. Daß dieses Virus sowohl im Blute als in den Organen kranker Tiere sich vorfindet, ist nach Burnet sicher. Burnet bewies durch gleichzeitige Filtration anderer Bakterien (Hühnercholera und *Vibrio cholerae*), die ebenfalls in der Regel die Filter passierten, wenn sie das Geflügelpockenvirus passiert hatte, daß kein Grund vorhanden sei, von einem „microbe invisible“ als Erreger zu sprechen.

Die erworbene Immunität dauert nach Burnet länger, als Loewenthal angibt.

Nach Cory (6) ist ein genauer Unterschied zwischen den Geflügelpocken und der Geflügeldiphtherie nicht zu machen. Die Aetiologie der Krankheit ist noch nicht genügend geklärt. Am empfänglichsten sind Hühnchen im Alter von 7—8 Monaten.

Auch Kinsley (17) gibt zu, daß die genaue Unterscheidung zwischen Epithelioma contagiosum und Geflügeldiphtherie in gewissen Fällen mit Schwierigkeiten verbunden sei; er hält es für möglich, daß die beiden Krankheiten identisch und nur deshalb scheinbar verschieden sind, weil sie in verschiedenen Geweben sich lokalisieren. Vielleicht spielt auch eine verschiedengradige Virulenz eine Rolle.

Nach Kitt (18) haben die croupös-diphtheroiden Schleimhautentzündungen des Geflügels, die zum Teil mit warzigen, grützig zerfallenden Epithelwucherungen der Haut, des Schnabels und der Augenlider einhergehen, keine einheitliche Aetiologie.

Friedberger-Fröhner (10) teilen die croupös-diphtherischen Schleimhautentzündungen des Hausgeflügels in zwei bei ähnlichen Symptomen doch im wesentlichen differente Hauptgruppen: Die Geflügeldiphtherie im engeren Sinne, eine durch Spaltpilze erzeugte croupös-diphtherische Schleimhautentzündung, und die Geflügelpocken, eine durch filtrierbare Krankheitserreger veranlaßte croupös-diphtherische Schleimhautentzündung mit Hautaffektionen. Die früher als Parasiten aufgefaßten, in den Epithelien eingeschlossenen Körperchen stellen nach Friedberger und Fröhner nichts anderes als Epithelmetamorphosen dar.

Carnath (5) beschreibt eine unter dem Geflügelbestand des Kaiserl. Gesundheitsamtes ausgebrochene Seuche, die ganz unter dem Bilde der

Geflügeldiphtherie verlief. Zufällig beobachtete Carnwath bei einem der Tiere eine kleine, pockenartige Warze auf der linken Bartlappe. Durch diesen Befund aufmerksam gemacht, versuchte Carnwath, die diphtherischen Beläge einzelner Hühner auf den skarifizierten Kamm und die Kehllappen von gesunden Tieren zu übertragen. Auf diese Weise vermochte er Knötchen zu erzeugen, die sich später durch Nekrose und Sekretion von serösem Exsudat in gelbe oder dunkel verfärbte Krusten verwandelten. Daß es sich hierbei um Geflügelpocken handelte, wurde durch Sticker bestätigt. Durch Passageversuche zeigte sich, daß sich stets durch das Pockenmaterial diphtherische Erkrankung der Schleimhäute und von diesen wieder Pocken erzeugen ließen. Carnwath schließt aus seinen Versuchen, daß das Geflügelpockenvirus imstande sei, einen ziemlich chronisch verlaufenden, auf die Kopfschleimhäute beschränkten, entzündlich exsudativen, diphtherischen Prozeß ohne wesentliche Mitbeteiligung der äußeren Haut hervorzurufen.

Carnwath vermutet daher, daß das Krankheitsbild, das andere Forscher als Diphtherie bakteriologisch untersucht haben, in vielen Fällen auch Geflügelpocken waren, und weist auf die Möglichkeit der Identität von Geflügelpocken und Geflügeldiphtherie hin.

Fally (8) dagegen, der mit Diphtheriematerial Impfungen auf die Haut vornahm, die alle resultatlos verliefen, kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Ergebnis: „À quelque procédé d'inoculation que l'on s'adresse pour la production de la diphtérie, jamais il ne se développent sur les sujets d'expérience ces tumeurs cutanées, qui caractérisent l'épithélioma.“ Fally glaubt daher, daß es sich bei Carnwath nur um ein zufälliges Zusammentreffen beider Krankheiten gehandelt hat. Nach Fally sind bei der Diphtherie hauptsächlich die Schleimhäute betroffen und nie ist nach ihm eine Virulenz des Blutes vorhanden, während bei den Geflügelpocken neben der Affektion der Schleimhäute in erster Linie die allgemeine Decke Sitz der Krankheit ist, charakteristische Tumoren sich bilden und stets auch das Blut den Erreger beherbergt.

Lipschütz (21) beschäftigt sich mit den auch von Halberstädter und Prowazek sowie von Borell beschriebenen kleinsten Elementen, den sogenannten Borellschen Körperchen, in denen er den Träger des Virus sieht. Durch den Reiz der intracellulären Parasiten sollen degenerative Veränderungen von seiten des Protoplasmas oder des Kernes oder beider ausgelöst werden, die das Auftreten der „Einschlüsse“ zur Folge haben. Lipschütz betont, daß das Virus nicht nur in der Haut, sondern auch, ohne Veränderungen hervorzurufen, in den Organen vorhanden sei; erst das Zusammentreffen mit Geweben, zu denen das Virus eine spezifische Affinität besitze, diene als auslösendes Moment für die betreffende Gewebsreaktion.

Hauser (12) erwähnt in seinen Veröffentlichungen über Geflügeldiphtherie einen mit diphtherischen Schleimhautaffektionen verbundenen Fall von kontagiösem Epitheliom. Er isolierte aus dem Maulhöhlenbelag und aus dem Pleurabelag ein auch sonst regelmäßig bei Diphtheriefällen gefundenes pathogenes Bakterium. Hauser spricht die Ansicht aus, „daß das Epitheliom im höchsten Falle den Boden für die sekundär einsetzende Bakteriendiphtherie vorbereite oder daß beide Krankheiten rein zufällig nebeneinander einhergehen“.

Jowett (15) beschreibt die in der Kapkolonie als eine häufige, sehr kontagiöse Geflügelseuche vorkommenden Pocken. Eine Identität mit

der Diphtherie (avian diphtheria oder diphtheritic roup) hält Jowett für gänzlich ausgeschlossen; er beruft sich hierbei auch auf die Untersuchungsergebnisse von Fally, die oben bereits erwähnt wurden.

Diese Zusammenstellung der wichtigsten Literatur über Epithelioma contagiosum des Hausgeflügels zeigt, wie sehr die Anschauungen der verschiedenen Autoren sowohl über die Aetiologie der Krankheit, als auch über ihre Beziehungen zur Diphtherie auseinandergehen. Jedenfalls stimmen aber darin alle überein, daß die als Begleiterscheinung der Geflügelpocken beschriebenen Affektionen der Schleimhäute des Kopfes eine große Ähnlichkeit mit der durch die Diphtherie hervorgerufenen Erkrankung dieser Schleimhäute aufweisen und unter Umständen zu Verwechselungen Veranlassung geben können. Bei beiden Krankheiten sind gelb-käsige Beläge auf, unter und neben der Zunge, am Gaumen, Rachen und Kehlkopfeingang, eiterige Conjunctivitis, katarrhalische Entzündung der Schleimhäute der Nasen- und Nebenhöhlen häufige Erscheinungen. Daß diese Veränderungen auf dasselbe ursächliche Agens wie die Pocken zurückzuführen sind, wird von verschiedenen Seiten bestätigt [Röll (32), Pfeiffer (27), Loewenthal (22), Carnwath (5)]. Andererseits wird von einigen Autoren [Loir und Ducloux (23), Streit (37), Reinemann (29)] bei Beschreibung von Geflügelseuchen, die unter dem Bilde der Diphtherie verlaufen sind, auch vereinzelt Auftreten von „warzenartigen Pusteln“, „Geschwülsten“ und „Tumoren“ erwähnt, Vorkommnisse, die uns doch den Gedanken nahelegen, ob es sich in diesen Fällen nicht um Geflügelpocken gehandelt hat. Cory (5) und Kinsley (17) geben zu, daß die beiden Krankheiten häufig nicht voneinander zu unterscheiden sind. Ferner sind es die Angabe von Hauser (12) und ganz besonders die Untersuchungen von Carnwath (5), aus denen hervorgeht, daß ein Zusammenhang zwischen Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken besteht.

Ueber die Diphtherie steht fest, daß sie keine einheitliche Erkrankung darstellt. So ist bei Galli-Valerio (11) zu lesen: „Qu'avec ce nom de diphtérie des oiseaux on a fait une déplorable confusion de différentes affections“, und Nocard-Leclainche (26) sagen: „En résumé il existe chez les oiseaux plusieurs diphtéries microbiennes. Deux entre elles sont caractérisées par l'analyse bactériologique: „la diphtérie des pigeons“ de Loeffler et „la diphtérie aviaire“ de Haushalter, Loir et Ducloux et Quaranta. En dehors de ces deux affections seules étudiées ici, il existe d'autres formes, qu'on ne peut classer à l'heure actuelle“.

Ziehen wir all dies in Betracht, so ist es jedenfalls berechtigt, mit Carnwath (5) zu vermuten, daß manche der bisher als „Diphtherie“ beschriebenen Geflügelkrankheiten tatsächlich Geflügelpocken waren, und die Frage aufzustellen: Sind überhaupt Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken zwei verschiedene Krankheiten und ist es nicht vielmehr in den meisten Fällen derselbe Erreger, der je nach seiner Lokalisation bald die Erscheinungen der Diphtherie, bald die der Pocken hervorruft?

Nach dem Erscheinen der Carnwathschen Arbeit machte ich mich auf Veranlassung und unter der gütigen Leitung von Herrn Professor Dr. Zwick daran, die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken des näheren zu untersuchen und vor allem festzustellen, ob es möglich ist, durch Uebertragung von Diphtheriematerial auf die Haut pockenähnliche Affektionen hervorzurufen.

B. Eigene Untersuchungen.

I. Herkunft der Stammhühner und Versuchstechnik.

Im ganzen untersuchte ich 10 Fälle von Geflügeldiphtherie. Die eingesandten Hühner stammten in der Hauptsache aus verschiedenen Gegenden Württembergs, ferner aus Bayern, Baden und der Rheinprovinz. Es handelte sich also um lauter räumlich weit voneinander getrennte Seuchenausbrüche bei Hühnern der verschiedensten Rassen und es wurde auch bei Unterbringung, Fütterung und Pflege der Impftiere stets peinlichst darauf geachtet, daß keine unliebsame Verquickung der einzelnen Fälle durch spontane Uebertragung stattfinden konnte. Als Impftiere wurden durchweg einwandfreie, vorher längere Zeit beobachtete, junge (6 Monate bis 1 Jahr alte) Hühner verwendet.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Von den lebend oder tot eingesandten Hühnern wurden die Beläge der Schleimhäute, das schleimig-eiterige Sekret der Nasen- oder Kopfhöhlen oder der Conjunctiven entnommen und in einer sterilen Reibschale unter Zusatz von steriler physiologischer Kochsalzlösung zu einer dünnen, möglichst gleichmäßigen Flüssigkeit verrieben.

Nach vorausgegangener Reinigung und Desinfektion mit Alkohol wurde die Haut strichförmig oberflächlich und unter Vermeidung einer Blutung im Bereich des Kammes, des Gesichtes und der Kehllappen skarifiziert; auf die skarifizierten Stellen, oder auch auf die durch Ausrupfen der Federn entblößte Brusthaut wurde die zur Infektion bestimmte Flüssigkeit mit ausgeglühtem Messer eingerieben.

Anderen Tieren injizierte ich das Impfmateriel mit ausgekochter Pravaz-Spritze unter die Schleimhaut des Maules rechts und links von der Zunge, am Gaumen und Rachen, unter die Conjunctivschleimhaut oder die Nasenschleimhaut. In anderen Fällen fand eine Kombination der kutanen und submukösen Impfung statt.

II. Beschreibung der einzelnen Fälle.

1. Impfungen mit unfiltriertem Material und Organübertragungen.

Fall I.

Eingesandt am 26. Aug. 08 von Ludwigsburg, Kadaver eines Hahnes, weiß, Wyandotte.

Sektionsbefund: Auf der Schleimhaut der Rachenhöhle, besonders in der Umgebung des Schlund- und Kehlkopfes finden sich verschiedene stecknadelkopf- bis linsengroße, gelbliche, erhabene, leicht entfernbare Beläge mit unregelmäßigem Rande. Der Schnabel ist verklebt mit einem grauweißen, fadenziehenden Schleime, der auch die ganze Nasenhöhle sowie die Stirn- und Infraorbitalhöhlen erfüllt und teilweise mit gelben Flocken untermischt ist.

Impfungen.

Hahn 1 gei. 26. Aug. 08 von St. H. (Stammhuhn) auf Ka. (Kamm), Ge. (Gesicht), Ke. (Kehllappen). Der Hahn hat nie irgendwelche Krankheitserscheinungen gezeigt.

Hahn 2 gei. 26. Aug. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

3. Sept.: Die Augenlider sind etwas verklebt, es besteht ein leichter seröser Ausfluß aus den Lidspalten.

5. Sept.: Die Conjunctiven sind mit eiterig-schleimigem Sekret bedeckt. Auf der Rachenschleimhaut treten vereinzelte stecknadelkopfgroße, gelbe Belaginseln auf. Der Prozeß schreitet von jetzt ab rasch weiter fort. Das Tier verliert die Freßlust, sitzt teilnahmslos in seinem Käfig und kratzt sich häufig an den Augen. Die Augenlider

sind geschlossen und werden durch die unter ihnen sich ansammelnden Sekretmassen stark hervorgewölbt. Auch die Beläge auf der Rachenschleimhaut vergrößern sich allmählich, greifen auf den Kehlkopf über und führen dadurch zu hochgradiger Atemnot.

7. Okt.: Tod des Tieres.

Sektionsbefund: Starke Abmagerung. Beiderseits ist der Augapfel mit zusammenhängenden, haselnußgroßen, gelb-käsigen Massen vollständig bedeckt. Die Nasenlöcher sind durch eingetrocknetes Sekret verklebt. Gaumenspalte, Nasenhöhle und Infracorbitalhöhlen sind ausgefüllt mit teils eingetrocknetem käsigen, teils flüssigem und mit Schleim untermischtem Eiter. An der Rachenwand, am Kehlkopfeingang und im Kehlkopf sitzen ausgebreitete gelbe Beläge, welche das Kehlkopflumen nahezu verlegen und sich auch in das obere Drittel der Trachea fortsetzen. Vereinzelte Bronchien und Bronchiolen sind verstopft durch gelbe Pfropfe, welche zu nekrotischen Veränderungen in den betreffenden Lungenpartien Veranlassung gegeben haben.

Allgemeine starke Injektion der venösen Gefäße, besonders des Darmes.

Huhn 3 gei. 26. Aug. 08 von St. H. auf Ma. (Maul-), Ra. (Rachen-), Na. (Nasenschleimhaut).

Das Huhn hat nie Krankheitserscheinungen gezeigt.

Huhn 4 gei. 26. Aug. 08 von St. H. auf Ma. und Ra.

28. Aug.: Vermehrte Schleimsekretion im Rachen und auf den Bindehäuten.

5. Sept.: Starke Tränensekretion; auf der Rachen- und Kehlkopfschleimhaut machen sich vereinzelt umschriebene, gelbe Belaginseln bemerkbar, die sich rasch vergrößern und am 9. Sept. den Tod des Huhnes durch Ersticken herbeiführen.

Sektionsbefund: Kamm und Kehlappen blaurot verfärbt. Beide Augenlider verklebt, die Bindehäute mit eiterigem Sekret bedeckt. Die ganze Rachenschleimhaut, sowie der Kehlkopfeingang überzogen mit dicken gelben Membranen, die zu fast vollständigem Verschuß der Kehlkopfföffnung geführt hatten.

Hahn 7 gei. 21. Sept. 08 von Hahn 2 auf Ka., Ge., Ke. und Ma., Ra.

23. Sept.: Links und rechts von der Zunge sind an den Einstichstellen zarte gelbe Striche aufgetreten, die zu stecknadelkopfgroßen Belägen anwachsen, dann aber wieder verschwinden.

30. Sept.: Es macht sich aus der Gaumenspalte und den Nasenlöchern ein Ausfluß von hellem, zähem Schleim bemerkbar, auch lassen sich an der Rachenwand verschiedene gelbe Beläge von Hirsekorn- bis Haferkorngröße feststellen. Das Huhn läßt ein röchelndes Atemgeräusch hören.

Allmählich verschwinden jedoch alle diese Symptome wieder. Das Tier ist stets bei gutem Appetit geblieben und wird am 19. Dez. als gesund aus der Beobachtung entlassen.

Huhn 8 gei. 21. Sept. 08 von Hahn 2 auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma. und Ra.

12. Okt.: Es zeigt sich eine immer stärker werdende Hervorwölbung der rechten Infracorbitalgegend, die bis zur Größe einer Erbse heranwächst. Das rechte Auge trânt ziemlich stark und das Huhn kratzt sich häufig an der betreffenden Stelle. Jedoch bildet sich die Anschwellung langsam wieder zurück und bleibt als schwach linsengroße, harte, schmerzlose Erhebung bestehen, ohne dem Huhn weitere Beschwerden zu machen. Auch das Tränen des rechten Auges hört auf und es konnten keine weiteren Krankheitserscheinungen bei dem Tiere mehr beobachtet werden.

Huhn 9 gei. 6. Okt. 08 von Hahn 2 sk. (subkutan) unter die Brusthaut.

7. Okt.: Es zeigt sich verminderter Appetit.

8. Okt.: Leichter Durchfall; starke Schleimbildung in Maul und Rachen. Röcheln des Atemgeräusch. An der Impfstelle nekrotisches Absterben der Haut. In der Folge treten auch im Rachen und am Kehlkopf gelbe Beläge auf.

14. Okt.: Tod des Huhnes.

Sektionsbefund: Das ganze Unterhautbindegewebe in der Umgebung der Impfstelle ist fast über den ganzen Brustmuskel hin in eine gelbe, eiterige Masse umgewandelt, über der sich die Haut in nekrotischen Fetzen abziehen läßt. Die Lidbindehäute sind geschwollen, mit eiterigem Sekret bedeckt. Die Maulschleimhaut ist von zähem, mit gelben Flocken untermischtem Schleim überkleidet. Am Kehlkopf, in der Gaumenspalte, Nasenhöhle und den Infracorbitalhöhlen sind dicke, eiterig-käsige Beläge vorhanden. Auch die Trachea und die Bronchien sind teilweise mit Schleim erfüllt.

Die Darmschleimhaut ist leicht entzündlich gerötet.

Huhn 10 gei. 7. Okt. 08 von Hahn 2 sk. wie Huhn 9.

Auch hier wie bei Huhn 9 schon am Tage nach der Impfung Unwohlsein und Durchfall.

10. Okt.: Tod des Tieres.

Sektionsbefund: Ähnlich wie bei Huhn 9. Eiterig-schleimige Entzündung sämtlicher Kopfschleimhäute, jedoch ohne Bildung von diphtherischen Membranen. Darmentzündung. Nekrose der Haut über der Impfstelle.

Huhn 11 gei. 11. Okt. 08 von Hahn 2 auf Conjunctivalschleimhaut.
Außer leichter katarrhalischer Conjunctivitis an beiden Augen waren keine Veränderungen zu beobachten.

Huhn 12 gei. 14. Okt. 08 von Huhn 9 auf Ka., Ge., Ke. und Conjunctiva.
Auch hier trat nur eine leichte, vorübergehende Conjunctivitis auf.

Ergebnis von Fall I.

Es wurden 10 Uebertragungen vorgenommen. Die Verimpfung des diphtherischen Materials nur auf Haut bewirkte keine Hautveränderungen, wohl aber bei Hahn 2 starke Schleimhautrekrankung und Tod, während Hahn 1 gar nicht reagierte.

Durch Impfung auf die Schleimhaut konnte ich bei Huhn 4 heftige Krankheitserscheinungen mit Erstickungstod infolge starker Beläge im Kehlkopf hervorrufen, während Huhn 3, mit demselben Material und auf dieselbe Weise geimpft, überhaupt nicht erkrankte. Huhn 10 reagierte nur durch leichte Conjunctivitis.

Gleichzeitige Impfung auf Haut und Schleimhaut verursachte nur Schleimhautrekrankung, die in allen Fällen nach einiger Zeit abheilte (Huhn 7, 8 und 12).

Subkutane Impfung rief bei Huhn 9 und 10 eine in wenigen Tagen tödlich verlaufende starke Schleimhautrekrankung, Darmentzündung und lokale Nekrose der Haut an der Impfstelle hervor.

Fall II.

Eingesandt am 3. Sept. 08 aus Ueberlingen a. Bodensee, Huhn, weiß, Wyandotte.

Das Huhn lebte bei der Einsendung noch, zeigte aber im Rachen und Kehlkopf schon derartig starke croupös-diphtherische Beläge, daß es nur noch mit größter Mühe atmen konnte. Am 6. Sept. verendete das Tier.

Sektionsbefund: Fast die ganze Rachenschleimhaut ist überzogen mit dicken, gelben Auflagerungen. Im Kehlkopf sitzt ein das Lumen nahezu ausfüllender, trockener, gelber Belag. Die Nasenhöhlen und Nebenhöhlen sind mit zähem, grauweißem Schleim erfüllt; die Nasenlöcher mit eingetrocknetem Sekret vollständig verklebt.

Impfungen.

Huhn 5 gei. 3. Sept. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.
Außer einer leichten diffusen Anschwellung der Kehllappen in den ersten Tagen nach der Impfung sind keine Veränderungen aufgetreten.

Huhn 6 gei. 3. Sept. 08 von St. H. auf Ma. und Ra.
5. Sept.: Links von der Zunge tritt ein punktförmiger, gelber Belag auf, der bis zu der Größe eines Stecknadelkopfes anwächst, dann aber wieder verschwindet, so daß das Huhn am 16. Sept. keine Krankheitserscheinungen mehr zeigte.

Ergebnis von Fall II.

Leider konnte ich von Fall II infolge ungünstiger Umstände nur diese beiden Uebertragungen vornehmen; aus denen sich weitergehende Schlüsse nicht ziehen lassen.

Die Impfung auf die Haut bewirkte bei Huhn 5 nur lokale Reizungserscheinungen (Schwellung der Kehllappen).

Bei Impfung auf die Schleimhaut zeigte sich ebenfalls nur eine ganz geringe lokale Reaktion in Gestalt eines leichten, gelben Belages an der Einstichstelle.

Fall III.

Eingesandt am 18. Okt. 08 aus Hanau-Kesselstadt der Kadaver eines Hahnes, schwarz, Langshan.

Sektionsbefund: Das Tier ist ziemlich stark abgemagert. Beide Augen sind verklebt. Aus den Nasenlöchern ergießt sich ein heller, glasiger Schleim. Die Maulschleimhaut zu beiden Seiten der Zunge, sowie der größte Teil der Rachenschleimhaut ist mit schwer abhebbaren gelbgrünen Belägen bedeckt. Auch am Kehlkopfeingang sitzen zwei linsengroße, gelbe Herde. Die Nasenhöhlen und Infraorbitalhöhlen sind mit schleimig-eiterigem Sekret erfüllt. Daneben besteht starke Injektion der venösen Gefäße und sulzige Infiltration des Unterhautbindegewebes am Halse abwärts in der Umgebung des Kropfes.

Impfungen.

Huhn 13¹ gei. 19. Okt. 08 von St.H. auf Ka., Ge., Ke. und Ma., Ra.

Da auf die erste Impfung gar keine Reaktion eintrat, so wurde dieselbe noch verschiedene Male wiederholt. Es zeigten sich jedoch nur leichte Schwellung der Schleimhaut in der Umgebung der Impfstellen und geringe strichförmige, weißliche Beläge, die nach mehrtägigem Bestehen wieder verschwanden.

Am 26. Okt. wurde eine kleine Menge der Belagemulsion vom Stammhuhn in die Kehllappen eingespritzt, worauf sich am rechten Kehllappen eine umschriebene, erbsengroße Anschwellung bildete, die, zwischen den beiden Blättern des Kehllappens sitzend, am 30. Nov. aufgeschnitten wurde und eine vollständig trockene, bröckelige, gelbbraune Masse enthielt.

Huhn 14 gei. 19. Okt. 08 von St.H. auf Ma. und Ra.

Am 20. Okt. machten sich an den Impfstellen kleinste, gelbe, punktförmige Inselchen bemerkbar, die sich allmählich vergrößerten und über die Schleimhaut erhoben, aber keine größere Flächenausdehnung gewannen. Diese gelben, zuletzt etwa linsengroß gewordenen Wucherungen fielen ab und das Huhn wies am 25. Okt. keinerlei Veränderungen mehr auf.

Hahn 15 gei. 19. Okt. 08 von St.H., auf Ka. eingerieben und in Ke. eingespritzt.

Am 20. Okt. sind beide Kehllappen stark geschwollen und heiß. Allmählich wird die Anschwellung eine umschriebene, feste und bleibt beiderseits in Erbsengröße bestehen.

30. Nov.: Die Kehllappen werden gespalten und es läßt sich beiderseits an der geschwollenen Stelle eine trockene, gelbe, käsige Masse ausdrücken, worauf die Wunde rasch heilt.

Huhn 16 gei. 20. Okt. 08 von St.H. sk. unter die Brusthaut.

Am 21. Okt. ist das Tier unlustig und frißt nicht, erholt sich aber nach wenigen Tagen wieder vollständig. An der Impfstelle bildet sich eine taubeneigroße Anschwellung, die, eröffnet, trockenen, bröckeligen, braungelben Eiter enthält. Sonst keine Krankheitserscheinungen.

Huhn 20 gei. 24. Okt. 08 von St.H. sk. unter die Brusthaut.

Auch hier zeigte sich am Tage nach der Impfung geringere Freßlust und Munterkeit. Nach wenigen Tagen jedoch war das Tier wieder vollständig gesund. An der Impfstelle bildete sich eine schwartige Verdickung der Haut und Unterhaut.

Ergebnis von Fall III.

Es wurden 5 Uebertragungen vorgenommen. In allen Fällen zeigte das Impfmateriale nur geringe Infektionskraft und verursachte nur unbedeutende Veränderungen.

Bei Impfung auf die Schleimhaut zeigte sich nur ganz geringe lokale Reaktion in Gestalt kleiner Beläge (Huhn 13 und 14).

Auch bei Injektion des Materials unter die Haut oder in die Kehllappen blieb der Prozeß vollständig auf die Impfstelle beschränkt und führte zu einem abgekapselten Eiterherd.

Pockenähnliche Hautveränderungen konnten nicht beobachtet werden.

Fall IV.

Eingesandt am 23. Okt. 08 aus Mühlhausen i. Elsaß, lebender Goldfasan, Hahn.

Nach Angabe des Besitzers leidet das Tier seit 8 Tagen an geschwellenem Kopfe und Nasenausfluß.

Befund: Der Hahn sitzt vollständig teilnahmslos mit eingezogenem Kopfe und beim Atmen leicht geöffnetem Schnabel da. Die Cella infra-orbitalis ist beiderseits fast haselnußgroß hervorgetrieben, wodurch dem Kopf des Tieres ein unförmliches Aussehen verliehen wird. Die Nasenlöcher sind mit eingetrocknetem Sekret verklebt, nach dessen Entfernen sich, besonders wenn der Hahn den Kopf senkt, aus der Nase ein eiterig-schleimiges Sekret entleert. Aus den geschlossenen Augenlidern fließt ein glasiger Schleim. Aus dem Maule macht sich ein ekelhafter süßlich-fader Geruch bemerkbar. Am Zungengrund und in der Umgebung des Schlundkopfes sind verschiedene kleinere, gelbe Belaginseln zu erkennen. Außerdem besteht ein leichter Durchfall.

Die Cella infraorbitalis wird durch einen Schnitt eröffnet, und es werden daraus kleinere Stückchen einer goldgelben, trocken-käsigen Masse entfernt, die weiterverimpft werden (s. u.). Jedoch füllen sich die Höhlungen rasch wieder an. Die Augenlider verkleben vollständig; der Hahn ist nicht mehr imstande, sein Futter aufzunehmen und zeigt auch zentrale Störungen (Kreisbewegung). Am 29. Okt. Tod des Tieres.

Sektionsbefund: Außer den schon oben beschriebenen Veränderungen zeigen sich bei Eröffnung des Kopfes sämtliche Höhlen, besonders die Infraorbitalhöhlen, wie ausgegossen mit goldgelben, trockenen, bröckeligen Massen, die auch zu einer leichten Hervorwölbung des Gaumens Veranlassung gegeben haben. Auf der Rachen- und Maulschleimhaut sind keine Beläge mehr festzustellen. Die Lidsäcke sind beiderseits mit grauschleimigem Sekret erfüllt.

Impfungen.

Hahn 19 gei. 24. Okt. 08 von St. H. auf Ma. und Ra.

25. Okt.: An den Impfstellen leichte Anschwellung der Schleimhaut, die aber nach wenigen Tagen wieder zurückgeht.

29. Okt.: Aermalige Impfung, und zwar nun sowohl auf Schleimhaut als auf Kamm, Gesicht und Kehllappen.

30. Okt.: In den Schnabelwinkeln, sowie an den Impfstellen der Maulschleimhaut sind leichte gelbe Striche wahrzunehmen, die aber kein Bestreben zeigen, sich zu vergrößern, sondern bald wieder abfallen. Auf der Haut sind nie Veränderungen aufgetreten.

Hahn 21 gei. 29. Okt. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma. und Ra.

Am 21. Nov. zeigen sich links und rechts vom Zungengrund kleine, goldgelbe Pünktchen. Außerdem stellt sich im Laufe des November grauschleimiger Nasenausfluß ein, der bestehen bleibt, trotzdem das Tier stets munter und bei guter Freßlust ist. Erst als der Hahn ins Freie verbracht und dort den Einflüssen der ziemlich starken Kälte ausgesetzt wird, verschlimmert sich sein Zustand rasch und er verendet am 2. Febr. 09.

Sektionsbefund: Sämtliche Schleimhäute des Kopfes, besonders der Nasenhöhle, des Rachens und Kehlkopfes sind gerötet, geschwollen und mit einem zähen, schleimigen, mit eiterig-gelben Flocken untermischten Sekret überzogen. Das Tier ist ziemlich stark abgemagert und es besteht eine geringgradige Darmentzündung.

Hahn 22 gei. 29. Okt. 08 von St. H. sk. am linken Unterarm.

Außer Anschwellung und nekrotischem Absterben der Haut an der Impfstelle in der Größe eines Pfennigstückes sind keine Krankheitserscheinungen zur Beobachtung gekommen.

Hahn 27 gei. 10. Nov. 08 von St. H. sk. unter die Brusthaut.

Außer einer lokalen Absceßbildung sind keine Veränderungen aufgetreten.

Hahn 28 gei. 10. Nov. von St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma. und Ra.

12. Nov.: Leichte Schwellung der Schleimhaut an den Impfstellen.

17. Nov.: Schleimiger Nasenausfluß; das Tier läßt ein röchelndes Atemgeräusch hören und schnalzt öfters unter heftigem Schütteln des Kopfes.

28. Nov.: Am Kehlkopfeingang machen sich zarte, gelbe, strichförmige Beläge bemerkbar, die sich aber nicht vergrößern. Die Erscheinungen bleiben sich nun ziemlich gleich, jedoch wurde das Tier allmählich schwächer und bekam Durchfall. Am 23. Dez. Tod des Hahnes.

Sektionsbefund: Starke Abmagerung. Kamm und Gesicht blaß und blutleer. Schleimig-eiterige Entzündung der Nasen- und Rachenschleimhaut. Als Todesursache ist anzusehen eine durch sehr zahlreiche, besonders in den Dünndarmabschnitten gefundene Exemplare von *Heterakis inflexa* hervorgerufene heftige Darmentzündung.

Ergebnis von Fall IV.

Es wurden 5 Uebertragungen vorgenommen. Gleichzeitige Impfung auf Haut und Schleimhaut führte in 2 Fällen zu einer chronisch verlaufenden Erkrankung der Kopfschleimhäute (Hahn 21 und Hahn 28), die unter Mitwirkung anderer schädigender Einflüsse (Kälte und Würmer) tödlichen Verlauf nahm. Bei Hahn 19 war trotz wiederholter Impfungen nur eine ganz geringe Reaktion in Gestalt zarter, gelber Striche an den Impfstellen zu beobachten.

Die subkutane Impfung führte wie bei Fall III nur zu lokaler Nekrose der Haut bzw. Absceßbildung.

Auf der Haut konnten Veränderungen nicht erzeugt werden.

Fall V.

Eingesandt 27. Okt. 08 aus Großbottwar-Württemberg, junger, lebender Hahn, weiß, Langshan.

Der Besitzer berichtet, daß schon 3 andere junge Hühner im Verlauf von wenigen Wochen unter denselben Erscheinungen verendet seien.

Befund: Der Hahn versteckt meistens den Kopf in das gesträubte Gefieder. Die Atmung geschieht ziemlich angestrengt mit offenem Schnabel unter pfeifendem Geräusch. Aus beiden Nasenlöchern fließt ein fadenziehender, klarer Schleim, der auch in der Rachenhöhle zu beobachten ist.

Am 29. Okt. Tod des Hahnes.

Sektionsbefund: In der Rachen- und Nasenhöhle starke Schleimbildung; auch die Trachea ist in ihrer oberen Hälfte ganz mit grauweißem Schleim ausgefüllt. Vom Rachen zieht sich auf der Schleimhaut des Schlundes bis zum Kropf hinab ein hellgelber, leicht abhebbarer Ueberzug.

Impfungen.

Hahn 20 gei. 28. Okt. 08 von St.H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma. und Conjunctiva.

Am 4. Nov. zeigen sich an den Impfstellen rechts und links vom Zungenrund zarte, gelbe, strichförmige Beläge, die aber nach einigen Tagen wieder verschwinden. Dagegen tritt am 13. Nov. starker Nasenausfluß und Tränen aus dem linken Auge auf. Das Allgemeinbefinden ist etwas gestört. Kamm und Kehllappen verfärben sich blau. Das linke Auge wird stets geschlossen gehalten, die Lider sind verklebt.

19. Nov.: Tod des Hahnes.

Sektionsbefund: Das linke Auge ist vollständig von einer schüsselförmig ausgehöhlten, gelbweißen, trockenen Masse von Erbsengröße überzogen. Die Infraorbitalhöhlen sind ausgefüllt mit einem gelben, käsig-krümeligen Entzündungsprodukt. Im peritrachealen Bindegewebe ziehen sich entlang der Trachea, dieser teilweise fest aufsitzend, bis zum Kropfe hinab Auflagerungen von trockenem Eiter. Die Darmschleimhaut ist leicht entzündlich gerötet.

Hahn 23 gei. 31. Okt. 08 von St.H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Am 4. Nov. sind an der Rachenwand links, sowie am Zungenrund kleine gelbe Beläge aufgetreten. Auch leichter Nasenausfluß macht sich bemerkbar. Rechts von der Zunge wächst der Belag allmählich bis zu Linsengröße an und fällt dann ab. Der Hahn schüttelt häufig mit dem Kopfe und läßt dabei einen schnalzenden Ton hören. Jedoch verlieren sich alle diese Krankheitserscheinungen und das Tier wird wieder vollständig gesund.

Hahn 26 gei. 2. Nov. 08 von St.H. iv. (intravenös) in die zwischen Radius und Ulna verlaufende Vene.

Der Hahn ist am nächsten und übernächsten Tage nach der Impfung etwas unlustig, frißt nicht und hat leichten Durchfall. Schon am 3. Tage jedoch bessert sich das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme, auch stellen sich in der Folgezeit keine Krankheitserscheinungen mehr ein.

Ergebnis von Fall V.

Es wurden 3 Uebertragungen vorgenommen. Bei gleichzeitiger Impfung auf Haut und Schleimhaut trat nur Schleimhaut-erkrankung auf, die in einem Falle zum Tode führte (Hahn 20), während Hahn 23 den leichteren Krankheitsanfall überstand.

Intravenöse Impfung bewirkte nur vorübergehendes Unwohlsein und Durchfall.

Auf der Haut konnten keine Veränderungen beobachtet werden.

Fall VI.

Eingesandt 26. Nov. 08 aus Vaihingen a. F.-Württemberg lebendes Huhn, weiß, Landrasse.

Befund: Das noch verhältnismäßig muntere Tier, das vom Besitzer schon längere Zeit behandelt wurde, zeigt eine vom rechten Schnabelwinkel über die Wange und sackartig nach unten sich ziehende haselnußgroße Anschwellung. Dieselbe ist von der prall gespannten, glänzenden, etwas Feuchtigkeit ausschwitzenden äußeren Haut überzogen und im Innern mit einer trockenen, bröckeligen, schwefelgelben Masse wie ausgegossen. Diese zieht sich als ziemlich dicker, gelber Belag vom Schnabelwinkel über die Schleimhaut der Rachenwand sowie des Kehlganges und der rechten Gaumenhälfte hin. Der Belag läßt sich leicht abheben, worauf eine blutende, geschwürige Stelle zutage tritt. Der rechte Unterkieferast ist durch die Belagmassen vollständig eingeschmolzen, der ganze Unterkiefer dadurch etwas nach links verlagert, so daß das Tier beim Fressen sehr behindert ist. Es macht sich ein durchdringender süßlicher Geruch aus dem Maule bemerkbar.

Nach Spalten der Haut wurde mit der Pinzette der ganze aus einer gelben, festen, trockenen Masse bestehende Inhalt der Anschwellung herausgenommen und weiterverimpft. Schon am folgenden Tage jedoch war die anfangs stark blutende Höhlung wieder ausgefüllt und auch auf der Schleimhaut erneuerten sich die Membranen stets hartnäckig wieder. Der Sack wuchs mehr und mehr an bis zu Welschnußgröße, dazu trat eine rechtsseitige eiterige Conjunctivitis, auch schleimiger Nasenausfluß wurde beobachtet. Das Huhn konnte schließlich kein Futter mehr aufnehmen und verendete am 11. Jan. 09.

Sektionsbefund: Außer den bereits beschriebenen Veränderungen am Kopf, eiterig-schleimiger Entzündung der Nasen- und Nebenhöhenschleimhaut und starker Abmagerung keine pathologischen Veränderungen.

Impfungen.

Huhn 29 gei. 27. Nov. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Schon am 28. Nov. zeigte das Tier verminderte Freßlust, Anschwellung der Schleimhaut an den Impfstellen und angestrengte Atmung.

30. Nov.: Tod des Tieres.

Sektionsbefund: Kamm blaurot verfärbt; Nasenlöcher verklebt. Die Gaumenschleimhaut ist überdeckt mit einem grauweißen Belag, der sich durch die Gaumenspalte in die Nasenhöhlen fortsetzt. Auch auf der Rachenschleimhaut und am Kehlkopf vereinzelte festsetzende gelbe Membranen. Die Nasenhöhlen und Infraorbitalhöhlen sind mit zähen, grauen Schleimmassen erfüllt. Vom Kehlgang nach abwärts gegen den Brusteingang hin zieht sich im peritrachealen Bindegewebe ein gelbes, eiteriges Exsudat. Die Lungen sind ödematös infiltriert, die Leber weist eine geringgradige parenchymatöse Degeneration auf.

Hahn 30 gei. 27. Nov. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra. und Na.

Am 30. Nov. auf der Mauschleimhaut an den Injektionsstellen gelbe Striche. Die rechte Infraorbitalgegend wölbt sich etwas vor. In den folgenden Tagen beginnt auch das rechte Auge zu tränen und wird meist geschlossen gehalten. Die Anschwellung

tritt auch auf der linken Seite auf und wird immer stärker, so daß der Kopf ein unförmliches, viereckiges Aussehen bekommt. Starker Nasenausfluß und Abscheidung eines schleimig-eiterigen Sekretes aus beiden Augen.

15. Dez.: Tod des Tieres.

Sektionsbefund: Beiderseits am Zungengrund befinden sich linsengroße, gelbe Beläge. Die Cella infraorbitalis ist rechts und links mit außen trockenem, festem, im Zentrum breiig-weichem, weißgelbem Eiter ausgefüllt. In den Nasenhöhlen starke Schleimbildung. Beide Augen sind durch das gelbe, eiterige Conjunctivalsekret bedeckt, die Cornea rauchig getrübt.

Im Darm zahlreiche Exemplare von *Taenia infundibuliformis*.

Hahn 33 gei. 30. Nov. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

6. Dez.: An verschiedenen Stellen des Kammes, am linken Schnabelwinkel und an den Kehllappen sind unregelmäßig angeordnete, durch ihr grauweißes, mattglänzendes Aussehen von der roten Umgebung deutlich sich abhebende, hirsekorngroße Erhebungen aufgetreten. Dieselben sehen aus wie Bläschen, sind aber von fester Konsistenz. Diese Knötchen vergrößern sich langsam, konfluieren teilweise und bedecken sich auf ihrer Kuppe mit einem braunschwarzen Schorfe, der sich leicht abheben läßt, worauf ziemlich starke Blutung auftritt. Von diesen Wucherungen erreichen die einen Linsengröße, während andere kleiner bleiben; sie zeigen durchweg das Aussehen von rauhen, auf der Oberfläche rissigen Warzen. Auch am rechten Schnabelwinkel macht sich jetzt eine solche borkig überzogene, warzenartige Erhebung bemerkbar.

Nach dem ganzen klinischen Bilde konnte nunmehr kein Zweifel mehr bestehen, daß es sich hier um Geflügelpocken handle.

Während die Veränderungen am Kamm und den Kehllappen bis 21. Dez. ihren Höhepunkt erreicht hatten und durch allmähliches Eintrocknen unter Zurücklassung einer helleren, unregelmäßig narbenartigen Stelle abheilten, nahmen die in den Schnabelwinkeln gelegenen Pocken eine etwas andere Entwicklung. Auf der Schleimhaut des Gaumens waren gerade in den Schnabelwinkeln schon am 7. Dez. kleine gelbe Beläge sichtbar geworden, die mit der entsprechenden, auf der äußeren Haut sitzenden Warze in Verbindung standen und mit ihr weiter wuchsen. Besonders rechts entwickelte sich allmählich im Schnabelwinkel eine haselnußgroße Anschwellung, die mit einer gelben, trockenen Masse ausgefüllt war und von der aus sich die Beläge über die ganze Gaumenschleimhaut ausbreiteten.

Am 5. Jan. 09 wurde der Inhalt der Geschwulst entfernt, er erneuerte sich aber rasch wieder, auch waren die Schleimhautbeläge schon am folgenden Tage wieder vorhanden. Jedoch zeigte sich jetzt ein langsames Zurückgehen der Veränderungen. Die Geschwülste in den Schnabelwinkeln wurden immer kleiner und die Schleimhautbeläge fielen stückweise ab, ohne sich zu erneuern.

Am 20. Jan. 09, als die Pocken auf Kamm und Kehllappen abgeheilt waren, wurde auf die Brusthaut eine erneute Impfung mit Pockenmaterial von Huhn 34 vorgenommen. Es trat jedoch keine Reaktion des Gewebes auf.

Huhn 34 gei. 30. Nov. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

Am 6. Dez. machen sich reihenförmig genau den Impfstichen entlang angeordnete, stecknadelkopfgroße, perlenähnliche, mattglänzende Knötchen bemerkbar. Sie sind besonders zahlreich am rechten Kehllappen und rechts an der Kambasis, wo sie bald konfluieren und dadurch eine zusammenhängende, hügelig-höckerige, von Rissen durchzogene Leiste bilden. Während die Pocken am Kamm höher und größer werden, bleiben sie an den Kehllappen niedriger und zeigen mehr Neigung zu verschorfen, so daß schließlich die ganze Außenseite der Kehllappen mit einem schwarzen, blutigen Schorfe überzogen ist. Auch an den Augenlidern treten Pocken auf und geben durch starkes Wachstum bald zu völligem Verschuß der rechten Lidspalte Veranlassung. Das Auge trânt sehr stark, es bildet sich ein eiteriges Sekret im Lidsack, das allmählich den ganzen Augapfel überdeckt und die Lider stark hervorwölbt. Die Cornea, anfangs rauchig getrübt, wird durch den Eiterungsprozeß perforiert und das rechte Auge geht durch eiterige Panophthalmie verloren. Daneben besteht ein schleimiger Nasenausfluß und von den Schnabelwinkeln aus kann auch bei diesem Tiere ein Ubergreifen auf die Gaumenschleimhaut in Gestalt leichter, gelber Auflagerungen beobachtet werden.

Dieselben greifen jedoch nicht weiter um sich, die Pocken trocknen ein, fallen ab und das Huhn wird, mit Ausnahme einer geringen Eiterabsonderung aus der rechten Augenhöhle, wieder vollständig gesund.

Nach einigen Wochen sind auch die narbenartigen, sternförmigen, helleren Flecke auf Kamm und Kehllappen, die den Sitz der abgeheilten Pocken noch hatten erkennen lassen, verschwunden.

Am 3. Febr. 09 wurde das Huhn auf Kamm, Gesicht, Kehllappen, Mauschleimhaut und Brusthaut mit Material von Hahn 52 (Fall VIII) aufs neue geimpft. Auf der Haut zeigten sich keine Veränderungen. Auf der Mauschleimhaut bildeten sich, aus

der Impfstelle hervorstechend, zwei hirsekorngroße Belaginseln, die aber nach wenigen Tagen schon abfielen, ohne weitere Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

Das Tier zeigte sich demnach kurze Zeit nach Genesung gegen erneute Impfung unempfindlich.

Hahn 35 gei. 5. Dez. 08 von St. H. sk. unter die Brusthaut.

Der Hahn war 2 Tage nach der Impfung unlustig, zeigte aber dann keine Krankheitserscheinungen mehr.

Hahn 36 gei. 5. Dez. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

Auf Kamm und Kehllappen sind keine Veränderungen aufgetreten. Dagegen sind am 30. Dez. auf der Zunge, sowie am Gaumen gelbe, der Schleimhaut leicht aufsitzende diphtherische Membranen zu beobachten, die sich über die ganze Gaumenschleimhaut und Zunge ausbreiten, dann aber stückweise abfallen, ohne auf die äußere Haut übergreifen.

Am 1. Febr. 09 war der Hahn wieder vollständig gesund.

Hahn 40 gei. 15. Dez. 08 von Hahn 30 auf Brusthaut.

16. Dez.: Etwas ins Grünliche gehende Verfärbung der Haut an der Impfstelle.

17. Dez.: Geringe beetartige Anschwellung der ganzen Impfstelle, die bestehen blieb, bis sich am 21. Dez. die einzelnen Haarbälge als deutlich abgehobene, fast linsen- große Knötchen bemerkbar machten. Genau wie bei den bisher am Kopfe beobachteten Pocken begann nun eine oberflächliche Verschorfung der einzelnen Knötchen. Sie bedeckten sich allmählich alle mit dunklen Borken, nach deren Entfernung eine blutende Stelle zurückblieb. Im weiteren Verlaufe gingen diese Schorfe ineinander über, so daß nun die ganze Impfstelle mit einem teils mehr gelblich-braunen, teils mehr schwarzen Ueberzug bedeckt erschien. Unter dem Schorfe trockneten die Pocken ein. Sie fielen allmählich ab, so daß das Huhn am 10. Jan. 09 keine Krankheitserscheinungen mehr zeigte.

Am 13. Jan. erneute Impfung auf Kamm, Gesicht und Kehllappen mit Material vom Stammhuhn. Es trat jedoch keine Gewebsreaktion ein.

Das Huhn zeigte sich demnach, trotzdem die Erkrankung auf die Brust beschränkt geblieben war, auch am Kopfe unempfindlich gegen eine weitere Infektion.

Hahn 41 gei. 15. Dez. 08 von Hahn 30 auf Ka., Ge., Ke.

Am 20. Dez. sind feine, mit eingetrockneten Blutkrusten bedeckte Wärrchen im Schnabelwinkel, im Gesicht, am Kamm und den Kehllappen wahrzunehmen, die sich zu linsen- bis erbsengroßen, teilweise konfluierenden Pocken entwickeln (s. Fig. 1 u. 2). Am rechten Schnabelwinkel geht der Prozeß in Form von leichten, gelben Auflagerungen auf die Gaumenschleimhaut über. Jedoch breiten sich dieselben nicht weiter aus und die Heilung geht durch Eintrocknen und Abfallen der Pocken vor sich.



Fig. 1.

Fall VI. Hahn 41 gei. 15. Dez. 08 mit Diphtheriematerial von Hahn 30.
Aufnahme am 9. Jan. 09 — rechte Seite.



Fig. 2.
Fall VI. Hahn 41 — linke Seite.

Auch dieses Huhn zeigte bei erneuter Impfung am 13. Jan. 09 mit Material vom Stammhuhn auf die Brusthaut keine Reaktion.

Um eine spontane Uebertragung der Pocken zu ermöglichen, wurde Huhn 50 am 4. Jan. 09 zu Hahn 33 in den ziemlich engen Käfig gesetzt, wo die beiden Tiere häufigen Berührungen ausgesetzt waren. Es traten jedoch während eines vierwöchentlichen Zusammenlebens bei Huhn 50 nie irgendwelche Krankheitserscheinungen ein.

Ergebnis von Fall VI.

Von Fall VI wurden 8 Uebertragungen vorgenommen.

Bei gleichzeitiger Impfung auf Haut und Schleimhaut entwickelten sich nur auf der Schleimhaut krankhafte Prozesse, die zu eiterig-schleimiger bzw. croupös-diphtherischer Entzündung der Kopfschleimhäute führten (H. 29 und 30). Daraus ist zu schließen, daß die Schleimhaut für die Aufnahme des Infektionsmaterials empfänglicher ist als die äußere Haut. Bei Huhn 29 trat der Tod schon 3 Tage nach der Impfung ein, während ja die Pocken in der Regel erst am 5. oder 6. Tage sichtbar werden.

Impfung ausschließlich auf die Haut erzeugte in allen Fällen, ausgenommen Hahn 36, bei dem nur bald wieder verschwindende Diphtheriemembranen auf der Mauschleimhaut auftraten, nach einem 5—6-tägigen Inkubationsstadium typische Pocken an den Impfstellen, sei es am Kopf oder auf der Brust (H. 33, 34, 40 und 41). In den ersten Tagen nach der Genesung waren diese Tiere für eine erneute Impfung nicht empfänglich.

Vom Schnabelwinkel, einem Lieblingssitze der Pocken, griffen dieselben meist in Form geringer diphtherischer Auflagerungen auf die benachbarte Gaumenschleimhaut über. Bei Huhn 34 verursachten sie außerdem eine eiterige Panophthalmie.

Bei subkutaner Impfung trat, ebenso wie bei dem Versuche einer spontanen Uebertragung, keine Erkrankung auf (H. 35 und 50).

Bei letzterem Versuche (Huhn 50) ebenso wie bei Hahn 36 läßt sich der negative Ausfall vielleicht durch eine höhere Widerstandsfähigkeit der beiden Tiere erklären.

Fall VII.

Eingesandt 13. Dez. 08 aus Holzkirchen-Oberbayern lebende Henne, schwarz, Langshan.

Der Besitzer teilte mit, daß noch mehrere Hühner seines Bestandes unter ähnlichen Symptomen erkrankt seien.

Befund: Das junge, sehr kräftige Tier zeigt einen serös-schleimigen Nasenausfluß und läßt häufig unter lebhaften Schleuderbewegungen mit dem Kopf einen schnalzenden Ton hören.

Am 3. Jan. 09 zeigen sich am Kehlkopfeingang rechts zwei stecknadelkopfgroße gelbe Belaginseln, die sich ausbreiten und in den Kehlkopf hineinwuchern, wo sie, das Lumen nahezu ausfüllend, zu starken Atembeschwerden Veranlassung geben. Da es sich um ein ziemlich wertvolles Tier handelt, werden die Beläge mit einer Pinzette sorgfältig entfernt, worauf sie nicht mehr auftreten. Auch der Nasenausfluß vermindert sich und hört schließlich ganz auf. Das Huhn war mit Ausnahme der wenigen Tage, wo ihm die Beläge im Kehlkopf Beschwerden verursacht hatten, stets munter und bei gutem Appetit. Es wurde seinem Besitzer zurückgesandt.

Um eine natürliche Infektion herbeizuführen und Impfmateriel zu gewinnen, wurde zu diesem Stammhuhn

Hahn 49 am 22. Dez. 08 in den Käfig gebracht.

Am 10. Jan. 09 zeigt sich bei dem Tiere sehr starke Schleimsekretion in der Maulhöhle und am 12. Jan. treten am Gaumen beiderseits der Schleimhaut leicht auf-sitzende, flächenartig ausgebreitete, gelbe Beläge auf. Sie erneuern sich trotz öfteren Entfernens stets bis zum folgenden Tage wieder. Allmählich jedoch lösen sie sich an den Rändern von der Schleimhaut los und fallen stückweise ab. Am 3. Febr. ist der Hahn wieder vollständig gesund.

Impfungen.

Huhn 62 gei. 19. Jan. 09 von Hahn 49 auf Ka., Ge., Ke.

Am 25. Jan. waren das ganze Gesicht, die Umgebung der Ohren, der Kamm und beide Kehlappen übersät mit zahllosen, kleinsten, mattglänzenden, weißlichen Knötchen, die sich rasch vergrößerten, ineinander übergingen und durch oberflächliche Verschorfung das typische Bild der Geflügelpocken darboten. Die Nasenlöcher waren mit eingetrocknetem Sekret verklebt und die Augenlider, die ebenfalls mit Pocken ganz besetzt waren, konnten nicht mehr geöffnet werden. Vom Schnabelwinkel ausgehend zogen sich gelbe Beläge über die Gaumenschleimhaut hin und breiteten sich langsam bis zur Schnabelspitze aus; dieselben waren leicht abhebbar, bildeten sich aber bald wieder. Das Huhn konnte schließlich keine Nahrung mehr zu sich nehmen, wurde immer schwächer und verendete am 15. Febr.

Sektionsbefund: Kamm, Gesicht, Kehlappen sowie die Umgebung der Ohröffnungen waren beiderseits vollständig besetzt mit zusammenhängenden hügelig-warzenartigen Erhebungen, die mit Krusten und Schorfen von schwarzer bis braungelber Farbe überdeckt und von Rissen und Furchen durchzogen waren. An der Ober- und Unterseite des Halses bis zur halben Halslänge gegen die Brust hinab waren ebenfalls vereinzelte sagokorngroße Pocken zu finden, während im übrigen die Haut nirgends derartige Eruptionen aufwies.

Bei Eröffnung der Lidspalten zeigte sich beiderseits der Augapfel durch ein gelbweißes, eiteriges Sekret in die Tiefe gedrängt. Die ganze Gaumenschleimhaut und auch der orale Teil der Backenschleimhaut wiesen zusammenhängende, dicke, gelbe Beläge auf. Nasen-, Stirn- und Infraorbitalhöhlen waren mit schleimig-eiterigen Massen ausgefüllt.

(Zwei aus Herzblut angelegte Bouillonkulturen blieben steril.)

Huhn 75 gei. 8. Febr. 09 mit Pocken von Huhn 62 auf Ka., Ge., Ke.

Am 12. Febr. Auftreten grieskorngroßer Pocken am Kammgrund links. Am rechten Schnabelwinkel und an verschiedenen Stellen des Gesichts sind krustenartige Auflagerungen zu beobachten, die sich leicht abschilfern lassen. Die Pocken am Kamm erreichen Linsengröße und heilen dann langsam durch Eintrocknen und Verschorfen ab.

Eine Schleimhauterkrankung war bei diesem Tiere nicht zu beobachten.

Huhn 76 gei. 8. Febr. 09 mit Pocken von Huhn 62 auf Ma., Ra., Na.

Schon am 9. Febr. Anschwellung der Schleimhaut an den Impfstellen.

Am 12. Febr. wuchern aus den Impfstichen zarte, gelbe Beläge hervor, die ganze rechte Gesichtshälfte ist stark angeschwollen, daneben besteht Nasenausfluß und Tränenfluß. Am 19. Febr. machen sich an der linken Kammspitze, über dem rechten Nasenloch, am oberen linken Augenlide und am linken Kehllappen stecknadelkopfgroße Pockeneruptionen bemerkbar. Das rechte Auge ist verklebt und an den Lidern sind verschiedene blutig-schorfige Stellen.

Die gelben Beläge der Maulschleimhaut nehmen rasch überhand, überziehen in dicken Auflagerungen den ganzen Gaumen und die Schleimhaut zu beiden Seiten der Zunge, so daß diese in den gelben Massen wie eingebettet liegt. Das Tier kann infolge der starken Beläge den Schnabel nicht mehr schließen. Ein durchdringender ekelhafter Geruch strömt aus dem Maule.

Am 5. März Tod des Huhnes.

Sektionsbefund: An der Kammspitze rechts drei stecknadelkopfgroße, helle, deutlich von dem blaurot verfärbten Kämme sich abhebende Pocken. Links an der Kambasis ebenfalls eine solche, die oberflächlich schon etwas verschorft ist. Beide Kehllappen sind an ihren Außenseiten mit gelben, trockenen Borken bedeckt.

Der ganze Kopf ist unförmlich angeschwollen, die Nasenlöcher und das Gesicht mit eingetrocknetem Sekret beschmutzt. Die Lidspalten sind geschlossen, bei leichtem Druck läßt sich aus ihnen eine graue, schleimige Flüssigkeit auspressen, der bei stärkerem Druck gelbe, eiterige Massen nachfolgen, welche die Lidsäcke ausfüllen und die Augäpfel zurückdrängen. Die Cornea ist rechts wolkig getrübt. Am Rande der oberen Augenlider befinden sich links eine, rechts zwei pockenähnliche, mit Schorfen überzogene Erhebungen. Die Infraorbitalhöhlen sind mit gelbem, trocken-käsigem Eiter erfüllt, wodurch die Gaumenplatte stark hervorgewölbt wird. Die ganze Maul- und Rachenschleimhaut ist mit dicken, gelben Belägen bedeckt, die gegen die Schnabelspitze durch die fortwährende Berührung mit der äußeren Luft zu einem festen braunen Ueberzuge eingetrocknet sind. Auch die Zungenspitze ist gänzlich eingeschrumpft. Der Kehlkopfengang, sowie das Lumen des Kehlkopfes sind durch gelbe Massen verstopft.

An den übrigen Organen sind keine Veränderungen festzustellen.

Hahn 58 gei. 18. Febr. 09 mit Pocken von Huhn 62 auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Auch hier zeigt sich wieder die schon bei Fall VI beobachtete Tatsache, daß die Schleimhaut dem Virus gegenüber eine größere Empfänglichkeit zeigt als die Haut. Am 19. Febr. ist eine stark vermehrte Sekretion der Kopfschleimhäute zu beobachten, daneben Anschwellung der rechten Infraorbitalgegend. Am 20. Febr. wuchern aus den Einstichstellen an der Maul- und Rachenschleimhaut gelbe, strichförmige Beläge hervor. Diese wachsen an der linken Rachenwand bis zu Linsengröße, rechts am Zungengrund zu Gerstenkorngöße an, fallen jedoch allmählich wieder ab. Nur die Anschwellung der rechten Infraorbitalhöhle bleibt als eine linsengroße harte Hervorwölbung bestehen.

Organübertragungen.

Hahn 80 gei. 16. Febr. 09 mit Milz von Huhn 62 auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Die möglichst steril entnommene Milz sowie das Herzblut werden in steriler Reibschale mit physiologischer Kochsalzlösung zerstampft und sodann in der üblichen Weise verimpft.

Es traten bei dem Hahn nie Krankheitserscheinungen auf.

Huhn 81 gei. 16. Febr. 09 mit Leber von Huhn 62 auf Ka., Ge., Ke.

Das Impfmateriel wurde in derselben Weise hergestellt wie bei Hahn 80.

Am 23. Febr. zeigen sich in der Umgebung des rechten Schnabelwinkels an 3 Stellen die charakteristischen, mattglänzenden Knötchen.

Am 28. Febr. brachen ebenfalls 3 solcher Knötchen dicht nebeneinander am rechten Kehllappen aus. Die Pocken werden jedoch nur stark stecknadelkopfgroß, verschorfen rasch, trocknen ein und fallen ab. Am 13. März ist nichts mehr an dem Tiere zu bemerken. Die Schleimhäute sind nicht miterkrankt.

Ergebnis von Fall VII.

Es wurden 9 Uebertragungsversuche vorgenommen.

Bei Hahn 49 fand eine Uebertragung des Infektionsstoffes spontan durch Kohabitation statt. Dieselbe führte zu leichten diphtherischen Schleimhautbelägen. Sie riefen, auf die Haut von Huhn 62 übertragen, eine starke Pockeneruption, verbunden mit schleimig-eiteriger bzw. croupös-diphtherischer Entzündung der Kopfschleimhäute hervor.

Mit dem von Huhn 62 entnommenen Pockenmaterial ließen sich bei Impfung auf die Haut Pocken ohne Mitbeteiligung der Schleimhaut erzeugen (Huhn 75), während bei Impfung auf die Schleimhaut sowohl croupös-diphtherische Entzündung der Maulschleimhaut, eiterige Rhinitis und Conjunctivitis als auch Pocken auftraten (Huhn 76).

Bei gleichzeitiger Impfung auf Haut und Schleimhaut erkrankte nur die Schleimhaut.

Daß die Leber verendeter Tiere den Infektionsstoff beherbergt, beweist Huhn 81, bei dem sich am Gesicht und am Kehllappen leichte Pocken entwickelten. Dagegen fiel der Versuch mit Milz und Herzblut negativ aus (Huhn 80).

Fall VIII.

Eingesandt 4. Dez. 08 aus Mettingen-Württemberg Kadaver eines jungen Hühnchens, rebhuhnfarben, Italiener Rasse.

Der Besitzer gibt an, daß sein ganzer Bestand von 28 jungen, erst im Sommer gekauften Hühnern schon seit geraumer Zeit an einer Krankheit leide, die sich durch Nasenausfluß, schnarchendes Atmen, häufiges Schütteln mit dem Kopfe und Abmagerung kenntlich mache. Verschiedene Tiere seien schon verendet.

Sektionsbefund: Das Hühnchen ist stark abgemagert. Auf dem Zungenrand, seitlich von der Zunge am Boden der Maulhöhle, am Gaumen und Kehlkopf sind dünne, der Schleimhaut fest aufsitzende gelbe Beläge zugegen. Die Nasenhöhlen und Nebenhöhlen sind mit glasigem, zähem Schleim erfüllt.

Impfungen.

Hahn 37 gei. 7. Dez. 08 von St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra. und Na. Von den Impfstichen der Schleimhaut ausgehend, entwickeln sich gelbe, dicke, wulstige Auflagerungen im Kehlgange, zwischen denen die Zunge eingebettet liegt.

Am 15. Dez. können an der rechten Kammbasis sowie an dem rechten Kehllappen grieskorngroße, helle Wärzchen beobachtet werden, die, am Kehllappen zu 5 in einer Linie entlang dem Skarifikationsstrich sitzend, nur stecknadelkopfgroß werden, während sie am Kamm durch Zusammenfließen eine erbsengroße, rauhe, rissige Erhebung bilden. Auch oberhalb der Nasenlöcher, die stets mit eingetrocknetem Sekret verklebt sind, bilden sich grauschwarze Wucherungen mit borkiger Oberfläche. Am 18. Dez. werden die Beläge neben der Zunge entfernt, sind aber schon am folgenden Tage in stärkerem Maße wieder vorhanden. Am 22. Dez. Tod des Hahnes.

Sektionsbefund: Neben den schon oben beschriebenen Veränderungen zeigen sich die Infraorbitalhöhlen mit käsig-eiterigen Massen ausgefüllt. Die Nasenhöhlen sind mit zähem, grauem Schleim verstopft.

Huhn 46 gei. 18. Dez. 08 mit Belag von Hahn 37 auf Ka., Ge., Ke.

Am 23. Dez. treten im Gesicht, an den Augenlidern, am Kamm, den Kehllappen teils mehr strichförmig angeordnet, teils unregelmäßig weißgraue Knötchen auf, die sich rasch vergrößern und durch Zusammenfließen zu hügelig-knotigen haselnußgroßen Wucherungen sich ausbilden. Der Kamm ist fast ganz bedeckt mit den Warzen, ebenso die Gegend oberhalb der Nasenlöcher und die Kehllappen. Auch in der Umgebung der Ohren treten kleine Pocken auf und ebenso an den Augenlidern, so daß das Tier dieselben kaum mehr öffnen kann. Es besteht ein schleimiger Ausfluß aus den Lidspalten. Das Allgemeinbefinden ist auf der Höhe der Erkrankung schlecht und das Huhn sitzt mit eingezogenem Kopfe und hängendem Schwanze da.

Von den Schnabelwinkeln aus überzieht sich die Gaumenschleimhaut mit einer gelben diphtherischen Membran.

Am 12. Jan. 09 werden die oberflächlich eingetrockneten Pocken zwecks Weiterimpfung von ihren Borken befreit, wobei die betreffenden Stellen stark bluten.

Jedoch schreitet der Eintrocknungsprozeß weiter, das Allgemeinbefinden bessert sich wieder, die Pocken fallen ab und die Beläge am Gaumen verschwinden. Auch der anfangs bei dem Huhn ganz blasse Kamm und die Kehllappen röten sich wieder und das Huhn wird wieder vollständig gesund.

Hahn 47 gei. 22. Dez. 08 mit Belag von Hahn 37 auf Ka., Ge., Ke.

Am 30. Dez. treten entlang den Impfstichen zahlreiche Pocken auf.

Am 2. Jan. 09 sind solche auch in der Umgebung der Augen und der Ohren, dann im Schnabelwinkel zu beobachten. Auf der Gaumenschleimhaut, an den Schnabelwinkeln zarte, gelbweiße Beläge. Die Pocken bedecken sich mit blutigen Schorfen und wachsen bis zu Linsengröße an.

Am 4. Jan. wird das Tier nach Berlin geschickt, wo es verendet. Sektionsbefund unbekannt.

Huhn 48 gei. 22. Dez. 08 mit Belag von Hahn 37 auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Schon am folgenden Tage stellt sich starke Schleimabsonderung ein.

Am 26. Dez. Auftreten von gelben Belägen an den Impfstellen der Schleimhaut.

Am 1. Jan. 09 am Kammansatz, in den Schnabelwinkeln und an den Kehllappen borkige Erhebungen. Die Nasenlöcher sind mit Sekret verklebt, starke Atemnot.

Am 7. Jan. Tod des Huhnes.

Sektionsbefund: Das ganze Gesicht, der Kamm und die Kehllappen sind überzogen mit blutigen Schorfen, die sich an den Schnabelwinkeln zu brombeerförmigen Wucherungen erheben. Die Maulschleimhaut besonders zu beiden Seiten der Zunge, dann die Rachenwände und die Umgebung des Kehlkopfes sind mit dicken, schwer abhebbaren Belägen bedeckt. Die Infraorbitalhöhlen sind mit käsigen Massen ausgefüllt; es besteht eine eiterige Rhinitis. Aus dem Maule macht sich ein durchdringender, widerlicher Geruch bemerkbar.

Hahn 52 gei. 7. Jan. 09 mit Belag von Huhn 48 auf Ka., Ge., Ke.

Am 11. Jan. treten an zahlreichen Stellen des Kammes, Gesichtes und der Kehllappen kleine, mattweißlich glänzende Knötchen auf, die sich hauptsächlich an den Schnabelwinkeln sowie an den Augenlidern stark entwickeln und zu Verschuß der Lidspalten führen. Im Lidsack findet sich ein eiteriges Sekret, das bei geschlossener Lidspalte einen Druck auf den Bulbus ausübt und die Lider stark hervorwölbt. Die Pocken verschorfen oberflächlich und bilden besonders in den Schnabelwinkeln und an den Nasenlöchern dicke Krusten. Vom rechten Schnabelwinkel ausgehend, überziehen gelbe Auflagerungen die Gaumenschleimhaut und einen Teil der Maulschleimhaut neben der Zunge.

Der Hahn kann schließlich infolge gänzlicher Erblindung sein Futter nicht mehr auffinden und verendet am 2. Febr.

Sektionsbefund: Neben den bereits beschriebenen Veränderungen bestehen noch eiterige Rhinitis, eiterige Conjunctivitis mit diffuser Trübung der rechten Cornea; links hat der Eiterungsprozeß die Cornea perforiert und das Auge mitergriffen.

Huhn 53 gei. 7. Jan. 09 mit Belag von Huhn 48 auf die Brusthaut.

Nach 5-tägigem Inkubationsstadium treten auf der Brust typische Pocken auf. Das Bild ist ein ganz ähnliches dem bei Hahn 40 (Fall VI) beschriebenen und es braucht deshalb hier nicht weiter darauf eingegangen zu werden.

Bemerkenswert jedoch ist, daß am 26. Jan. sich am Gaumen stecknadelkopfgroße, runde Inselchen darstellende, gelbe Beläge zeigen. Am 27. Jan. sind solche auch auf der Kehlkopf- und Rachenschleimhaut zu bemerken. In wenigen Tagen ist die ganze Gaumenschleimhaut mit einer dicken, gelben, leicht aufsitzenden Membran überzogen, die dem Tiere beim Fressen Beschwerden verursacht.

Jedoch geht die Erkrankung der Schleimhaut gleichzeitig mit derjenigen der Brusthaut in Heilung über.

Am 22. Febr. war das Tier wieder vollständig gesund.

Huhn 59 gei. 16. Jan. 09 mit Pocken von Huhn 46 auf Ka., Ge., Ke.

(Als Impfmateriale wurden nur die leicht abhebbaren, teilweise schon eingetrockneten Krusten von den Pocken des Huhnes 46 genommen.)

Am 20. Jan. waren beide Kammseiten, das Gesicht, und die Kehllappen mit zahlreichen, genau den Impfstichen entlang sitzenden Pockenknötchen übersät, die sich von dem dunkelroten Kamm deutlich abheben. Durch das rasche Wachstum der Pocken wurde der Kamm in einen dicken, unförmlichen, von schwarzen, teils trockenen, teils nässenden Borken überdeckten Wulst umgewandelt. Es kam zum Verschuß der Lidspalten und zu eiteriger Conjunctivitis. Am Gaumen links trat am 5. Febr. ein breiter, rechts ein etwas schmalerer Belagstreifen auf. Auch an dem scharfen Rande der Zunge war ein schmaler, gelber Saum zu bemerken.

Tod des Huhnes am 8. Febr. 09.

Sektionsbefund: Das ganze Gesicht ist mit eingetrockneten Schorfen bedeckt, deren Entfernung die roten, stark gewucherten Hautpapillen zum Vorschein kommen. Die Nasenlöcher sind verklebt. Kamm wie oben beschrieben. Die Augen sind durch eine den Bulbus einhüllende und zurückdrängende haselnußgroße, trockene, weißgelbe Masse stark hervorgewölbt. Die Cornea ist beiderseits rauchig gelblich. In den Maulwinkeln sitzen auf der Gaumenschleimhaut kleine, gelbe Beläge,

ebensolche an den Rändern der Zunge. Nasen- und Nebenhöhlen sind durch einen mit Eiter vermischten Schleim ausgefüllt.

(Zwei aus Herzblut angelegte Bouillonkulturen waren nach 3-tägigem Stehen im Brutschrank noch steril.)

Hahn 60 gei. 16. Jan. 09 mit Pocken von Huhn 46 auf Ma., Ra., Na.

Am 19. Jan. Auftreten von stecknadelkopfgroßen gelben Belägen an sämtlichen Einstichstellen, die sich am Zungengrund, an der Rachenwand und am Gaumen zu dicken gelben Wülsten ausbreiten. Daneben vermehrte Schleimsekretion in Maul- und Nasenhöhle. Die Krankheitsprozesse heilen jedoch innerhalb 3 Wochen wieder ab und am 10. Febr. waren keine erkennbaren Krankheitserscheinungen mehr vorhanden.

Huhn 61 gei. 16. Jan. 09 mit Pocken von Huhn 46 auf Brusthaut.

Außer einer geringen vorübergehenden beetartigen Anschwellung des ganzen Impffeldes war keine Erkrankung zu beobachten.

Huhn 51 am 4. Jan. 09 zu Huhn 46 ins Käfig gesetzt.

Am 13. Jan. zeigen sich auf der Gaumenschleimhaut in der Nähe der Schnabelwinkel dünne, gelbe, runde Beläge; ebensolche am folgenden Tage an der Rachenwand rechts. Sie nehmen rasch zu an Dicke und Ausdehnung. Daneben starke Schleimsekretion in Nasen- und Rachenhöhle und am 25. Jan. Tränenfluß und Verkleben der Augenlider. Am 1. Febr. zeigen sich auch am Kehlkopfingang zwei gelbe, stecknadelkopfgroße Beläge. Allmählich überzieht sich der ganze Gaumen mit einer gelben diphtherischen Pseudomembran.

Am 3. Febr. ist auf der äußeren Haut im linken Schnabelwinkel eine hirsekorn-große, verschorfte Erhebung erkennbar; der Schorf läßt sich leicht entfernen, worauf eine geringe Blutung stattfindet. Unterdessen beginnen die Beläge der Schleimhaut langsam zu verschwinden, zuerst die am Kehlkopf, dann die an der Rachenwand und zuletzt auch die am Gaumen durch allmähliches Abbröckeln. Der Schorf am linken Schnabelwinkel fällt nach einigen Tagen ab. Am 12. Febr. waren keine Veränderungen mehr zu beobachten.

Am 18. Febr. wurde das Huhn einer erneuten Impfung auf Kamm, Gesicht, Kehllappen und Brust mit Pockenmaterial von Huhn 62 (Fall VII) unterzogen. Es trat jedoch gar keine Reaktion des Gewebes auf.

Uebertragungsversuche mit Organen und Darminhalt.

Huhn 71 und 72 gei. 2. Febr. mit Herzblut und Milz von Hahn 52 auf Ka., Ges., Ke.

Bei beiden Tieren keine Krankheitserscheinungen.

Huhn 73 gei. 2. Febr. 09 mit Darminhalt von Hahn 52 auf Ka., Ges., Ke.

Der aus verschiedenen Darmabschnitten stammende Darminhalt wird gemischt, durch Zerreiben in steriler Reibschale fein zerteilt und in der üblichen Weise verimpft.

Nachdem das Tier einen ganzen Monat gesund gewesen war, zeigen sich plötzlich am 1. März im Innern des Kehlkopfes zwei punktförmige gelbe Belaginseln, die sich rasch vergrößern und starke Atembeschwerden verursachen. Das Huhn sucht sich durch Räuspern und Schütteln mit dem Kopfe der Beläge zu entledigen. Am 14. März sind sie verschwunden. Nach wenigen Tagen jedoch stellt sich abermals heftige Atemnot ein und das Huhn verendet am 19. März.

Sektionsbefund: Der Kehlkopf und das obere Drittel der Trachea sind mit einem schleimig-eiterigen Sekret vollständig ausgefüllt, ebenso die Nasenhöhlen und Nebenhöhlen.

Es ist in diesem Falle wohl nicht anzunehmen, daß die Schleimhauterkrankung eine Folge der Impfung mit Darminhalt war, da dieselbe erst einen Monat nach der Impfung auftrat und auch der folgende gleichzeitige Versuch dagegen spricht.

Huhn 74 gei. 2. Febr. 09 mit Darminhalt von Hahn 52 auf Ka., Ges., Ke.

Das Huhn hat nie Krankheitserscheinungen gezeigt.

Huhn 77 und 78 gei. 8. Febr. 09 mit Leber von Huhn 59 auf Ka., Ges., Ke.

Bei Huhn 77 ist nie eine Erkrankung aufgetreten.

Dagegen zeigt Huhn 78 am 11. Febr. gleichzeitig beiderseits genau an derselben Stelle zwischen Nasenloch, Schnabelwinkel und Auge flache, dunkle Schorfe von Linsengröße. Dieselben wachsen an Ausdehnung und Höhe, so daß sie schließlich als erbsengroße schwarze, brillenartig vor den Augen sitzende Warzen sich darstellen. Dazu stellt sich Nasenausfluß ein und durch die Gaumenspalte treten gelbe Eitermassen aus den Nasenhöhlen in die Maulhöhle herein.

Jedoch trocknen die Pocken allmählich ein und die eiterige Rhinitis heilt ebenfalls ab.

Ergebnis von Fall VIII.

Von diesem Falle, der besonders gute Resultate lieferte, wurden 16 Uebertragungsversuche vorgenommen.

Bei Impfung auf die Haut traten stets, mit Ausnahme von Huhn 61, das sich resistent erwies, Pocken und zugleich daran anschließend Erkrankung der Kopfschleimhäute (eiterige Conjunctivitis, Rhinitis und croupös-diphtherische Entzündung der Maul- und Gaumenschleimhaut) auf (H. 46, 47, 52, 53 und 59). In einem Falle (Huhn 53) waren bei der Impfung auf die Brusthaut auch Beläge im Maule zu beobachten. Hieraus läßt sich schließen, daß die Beläge im Maule nicht nur durch Uebergreifen der Pocken auf die benachbarte Schleimhaut, sondern auch unabhängig und ohne äußeren Zusammenhang mit Pocken auftreten können.

Bei Impfung mit Pockenmaterial nur auf die Schleimhaut entwickelten sich auf ihr diphtherische Beläge ohne Miterkrankung der Haut (Huhn 60).

Gleichzeitige Impfung auf Haut und Schleimhaut führte zu Schleimhauterkrankung und Pocken, wobei die erstere von größerer Bedeutung war und den Tod der Tiere verursachte (Huhn 37 und 48).

Ein Tier wurde durch längere Kohabitation mit einem schwerkranken einer natürlichen Infektion ausgesetzt (Huhn 51). Es erkrankte unter den Erscheinungen der Diphtherie und außerdem entwickelte sich am Schnabelwinkel eine kleine Pocke.

Die Impfungen mit Darminhalt (H. 73 und 74) verliefen negativ; den Versuch mit Huhn 73 möchte ich nicht als positiv bezeichnen.

Ebenso waren die Uebertragungen von Herzblut und Milz negativ (Huhn 71 und 72).

Dagegen ließen sich durch Verimpfung von Lebergewebe, wie schon bei Fall VII, Pocken erzeugen, wenigstens bei Huhn 78, während das in derselben Weise geimpfte Huhn 77 nicht erkrankte.

Fall IX.

Eingesandt am 10. Dez. 08 aus Biebrich a. Rhein zwei lebende junge Hähnchen, gesperbert, Landrasse.

Der Besitzer gibt an, daß noch verschiedene andere junge Tiere seines Bestandes unter denselben Erscheinungen erkrankt seien.

Befund: Hähnchen a sitzt mit eingezogenem Kopfe teilnahmslos da. Das rechte Auge geschlossen; starker Tränenfluß, schleimiger Nasenausfluß.

Tod am 12. Dez.

Sektionsbefund: Beiderseits schleimig-eiterige Conjunctivitis, wolkige Trübung der Cornea. Die Nasenhöhlen und Infraorbitalhöhlen sind mit grauem Schleim ausgefüllt, der sich durch die Gaumenspalte in die Maulhöhle hineinzieht und auch den Schnabel verklebt.

Hähnchen b zeigt nur Nasenausfluß.

Tod am 16. Dez.

Sektionsbefund: Aehnlich wie bei a, nur sind hier die Augenlidbindehäute und Augen nicht mitergriffen.

Impfungen.

Hahn 38 gei. 12. Dez. 08 von Hühnchen a auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Am 14. Dez. zeigen sich auf der Schleimhaut an den Impfstellen haberkorngroße gelbe Beläge. Beide Kehllappen sind diffus geschwollen und heiß. Diese Anschwellung verliert sich innerhalb weniger Tage wieder.

Am 21. Dez. wird auch am Gaumen ein kleiner gelber Belag wahrnehmbar, dazu stellt sich ein schleimiger Nasenausfluß ein.

Weitere Veränderungen konnten nicht beobachtet werden und die Entzündungserscheinungen der Schleimhaut heilen ab.

Hahn 39 gei. 12. Dez. 08 von Hähnchen a auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.
Es kam hier nur zur Bildung einer stark haselnußgroßen Hervorwölbung der linken Infraorbitalgegend, verbunden mit Tränenfluß aus dem linken Auge. Allmählich schrumpfte die Anschwellung etwas zusammen, der Ausfluß aus dem Auge hörte auf und es blieb nur eine linsengroße Auftreibung der linken Infraorbitalhöhle bestehen, die dem Tiere keine Beschwerden mehr verursachte.

Hahn 44 und 45 gei. 16. Dez. 08 von Hähnchen b auf Ka., Ges., Ke.
Bei keinem der beiden Tiere sind Krankheitserscheinungen aufgetreten.

Ergebnis von Fall IX.

Es wurden 4 Uebertragungen vorgenommen:

Bei Impfung auf Haut und Schleimhaut war nur eine leichte Schleimhauterkrankung zu beobachten.

Bei Impfung auf die Haut trat keine Reaktion ein.

Fall X.

Eingesandt am 26. Jan. 09 aus Neckarsulm: Lebendes Huhn, weiß, Italiener.

Der Besitzer berichtet, das Huhn sei schon seit längerer Zeit krank und außerdem seien noch 12 weitere Hühner seines Bestandes erkrankt gewesen, die aber alle wieder genesen seien.

Befund: Die Augenlider sind verklebt; es besteht ein heftiger eiteriger Nasenausfluß. Geringe gelbe Beläge sind auf Gaumen- und Rachenschleimhaut erkennbar und das Tier zeigt starke Atembeschwerden. Das Huhn verendet am 27. Jan. 09.

Sektionsbefund: Die Conjunctivalsäcke sind mit eiterig-schleimigem Sekret erfüllt, das die geschlossenen und verklebten Augenlider hervorwölbt. Ferner besteht eitrig Rhinitis und Empyem der Infraorbitalhöhlen. Am Gaumen sitzen verschiedene grieskorn- bis linsengroße Beläge. Der Kehlkopf ist durch käsige Massen fast vollständig verstopft.

Impfungen.

Huhn 64: gei. 26. Jan. 09 v. St. H. auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Schon am folgenden Tage sind der ganze Kopf und die Kehlappen heiß und angeschwollen, der Schnabel mit einem zähen Schleim verklebt. Jedoch geht diese Anschwellung bald wieder zurück und es bleibt nur eine umschriebene erbsengroße Hervorwölbung der rechten Infraorbitalgegend bestehen.

Dagegen treten am 1. Febr. auf der Schleimhaut des Maules und Rachens, von den Impfstellen ausgehende, dicke gelbe Beläge auf, die sich auch auf die Zunge ausbreiten. Daneben besteht ein heftiger seröser Ausfluß aus dem rechten Auge. Die Krankheit nimmt einen chronischen Verlauf. Die Schleimhautbeläge verschwinden allmählich wieder und nur ein schleimiger Nasenausfluß, Anschwellung der rechten Infraorbitalgegend und Ausfluß aus dem rechten Auge läßt sich dauernd beobachten. Das anfangs erheblich gestörte Allgemeinbefinden wird wieder gut.

Huhn 65: gei. 26. Jan. von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

Am 5. Febr. Anschwellung der ganzen linken Kopfseite, schleimiger Nasen- und Augenausfluß.

Am 8. Febr. ist auch die rechte Kopfhälfte ebenso angeschwollen, die Augenlider sind verklebt. Das Huhn frißt nichts mehr und verendet am 11. Febr.

Sektionsbefund: Die Conjunctiven sind geschwollen, mit grauem, schleimigem bzw. gelbem, eitrigem Sekret bedeckt. Die Nasenhöhlen sind mit zähem, mit gelben Flocken untermischtem Schleim erfüllt und die beiderseits stark hervorgewölbten Infraorbitalhöhlen mit gelbkäsigen Massen ausgegossen. An der Zungenbasis finden sich der Schleimhaut fest aufsitzende diphtherische Beläge von Stecknadelkopf- bis Linsengröße.

Hahn 66: gei. 28. Jan. 09 von St. H. auf Ka., Ge., Ke.

Keine Erkrankung.

Hahn 67: gei. 28. Jan. 09 von St. H. auf Ka., Ge., Ke. und Brusthaut.

Keine Erkrankung.

Hahn 79: gei. 11. Febr. 09 von Huhn 65. auf Ka., Ge., Ke.

Keine Erkrankung.

Ergebnis von Fall X.

Es wurden 5 Uebertragungen vorgenommen.

Bei Impfung auf die Haut und Schleimhaut zugleich trat starke Schleimhauterkrankung auf (Huhn 64).

Bei Impfung nur auf die Haut trat in einem Falle (Huhn 65) Schleimhauterkrankung und Tod, in allen anderen Fällen gar keine Erkrankung auf (Huhn 66, 67 und 79).

2. Filtrationsversuche.

Das Filtrat wurde in folgender Weise hergestellt: Die Beläge bzw. Pocken werden in einer sterilen Reibschale mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer möglichst feinen Emulsion zerrieben und nach 24 Stunden oder sofort durch ein sterilisiertes Berkefeld-Filter filtriert.

Das klare Filtrat wurde auf seine Keimfreiheit geprüft, indem je ca. 1 ccm desselben in ein mit Bouillon beschicktes Röhrchen gegossen und 3 Tage lang in den Brutschrank bei 37° gestellt wurde.

Es wurden geimpft:

Hahn 17: auf Ka., Ge., Ke. 20. Okt. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall III.

Hahn 18: auf Ma., Ra., Na. 20. Okt. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall III.

Bei keinem der beiden Tiere ist eine Veränderung aufgetreten.

Hahn 24: gei. 31. Okt. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall IV auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Hahn 25: gei. 31. Okt. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall IV auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Beide Tiere bleiben gesund.

Hahn 31: gei. 27. Nov. 08 mit Belagfiltrat von Hahn 20 Fall V auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Hahn 32: gei. 27. Nov. 08 mit Belagfiltrat von Hahn 20 Fall V auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Es treten bei keinem der beiden Tiere Krankheitserscheinungen auf.

Hahn 42: gei. auf Ka., Ge., Ke. 14. Dez. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall VI.

Hahn 43: gei. auf Ma., Ra., Na. 14. Dez. 08 mit Belagfiltrat von St. H. Fall VI.

Beide Tiere bleiben gesund.

Zu den Filtrationsversuchen von Fall VII und VIII wurden vollständig neue, noch nie gebrauchte Berkefeld-Filter benutzt und das zerstampfte Pockenmaterial mit physiologischer Kochsalzlösung fein gemischt und dann sofort filtriert. Auf diese Weise wurden geimpft:

Huhn 82: gei. 18. Febr. 09 mit Pockenfiltrat von Huhn 62 Fall VII auf Ka., Ge., Ke. und Brusthaut.

Am 1. März läßt sich auf der Brust eine leichte Anschwellung des ganzen Impffeldes wahrnehmen, ebenso ist am rechten Kehllappen eine ganz minimale, kaum erkennbare Erhebung aufgetreten. Die Erscheinungen werden rasch offensichtlicher. An der Brust treten die Haarbülge als deutliche, allmählich Linsengröße erreichende und an der Oberfläche verschorfende Warzen über ihre Umgebung hervor und bieten ganz dasselbe Bild auch in ihrem weiteren Verlauf, wie ich es bei direkter Ueberimpfung von Pocken auf Brusthaut habe beobachten können.

Auch an der Kambasis rechts, sowie hinter dem rechten Ohre treten Pocken auf, die bis zu Erbsengröße anwachsen, allmählich jedoch eintrocknen und ebenso wie die auf der Brust nach Abfallen der Schorfe abheilen.

Huhn 83: gei. 18. Febr. 09 mit Pockenfiltrat von Huhn 62 Fall VII auf Ka., Ge., Ke. sowie Ma., Ra., Na.

Am 5. März macht sich am linken Kehllappen eine deutliche grieskorngroße Pocke bemerkbar. Daneben zeigt das Tier häufiges Schütteln mit dem Kopfe und Schnalzen. Am 7. März ist auch rechts an der Kambasis eine stecknadelkopfgroße Pocke aufgetreten, außerdem befindet sich auf der Maulschleimhaut genau an der Impfstelle rechts von der Zunge ein gelber Belag in der Größe und Form eines Haberkerns, ebenso an der Rachenwand rechts eine Belaginsel von derselben Ausdehnung, ferner starke Schleimsekretion. Die Beläge, die, wie aus dem Auftreten gerade an den Injektionsstellen, durch das filtrierte Pockenmaterial verursacht worden sind, vergrößern sich rasch. Der zähe Schleim verstopft die Nasenhöhlen. Auch am Kehlkopf bilden sich Beläge und führen zu Atemnot. Die oben erwähnten Pocken dagegen trocknen ein und sind nahezu abgeheilt, als das Huhn am 24. März verendet.

III. Tabellarische Uebersicht.

Zur besseren Uebersicht über die in den untersuchten 10 Fällen erhaltenen Resultate gebe ich in folgendem eine kurze tabellarische Zusammenstellung jedes einzelnen Falles, sowie der Filtrationsversuche. Es wurden hierbei die schon bisher gebrauchten Abkürzungen gewählt:

Ka., Ge., Ke. = Impfung auf Kamm, Gesicht, Kehlkopf; Ma., Na., Ra. = Impfung auf Maul-, Nasen-, Rachenschleimhaut; sk. = subkutane Impfung; iv. = intravenöse Impfung; Bel. = Belag; St. H. = Stammhuhn.

Impftiere	Impfmateri- al	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
					Diphtherie	Pocken	
Fall I.							
Hahn, weiß, Wyandotte, aus Ludwigsburg: Diphtheriebelag auf Kehlkopf- und Rachenschleimhaut, schleimig-eiteriger Katarrh der Nasen- und Nebenhöhlen.							
Hahn 1	Bel. v. St. H.	26. 8.	Ka., Ge., Ke.	7. 10.	—	—	Eiterig-schleimige Entzündung sämtlicher Kopf- schleimhäute
" 2	dgl.	26. 8.	dgl.		+		
" 3	"	26. 8.	Ma., Na., Ra.	9. 9.	—	—	Eiterige Conjunctivitis, starke croupös-diphtherische Entzündung der Maulschleimhaut
" 4	"	26. 8.	dgl.		+		Nasenausfluß, leichte Beläge auf der Rachenschleim- haut
" 7	Bel. v. H. 2	21. 9.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		+	—	Schleimig-seröse Conjunctivitis, Anschwellung der rechten Infraorbitalgegend
Huhn 8	dgl.	21. 9.	dgl.	14. 10.	+	—	Nekrotisches Absterben der Haut an der Impfstelle, eiterige Conjunctivitis, schleimig-eiterige Entzün- dung der Maul- und Rachenschleimhaut
" 9	"	6. 10.	sk.	10. 10.	+	—	Nekrotisches Absterben der Haut an der Impfstelle, eiterig-schleimige Entzündung der Kopf-schleim- häute, Darmentzündung
" 10	"	4. 10.	sk.		+	—	Leichte Conjunctivitis
" 11	"	11. 10.	auf Conjunct.		schwach	+	Leichte Conjunctivitis
" 12	Bel. v. H. 9	14. 10.	Ka., Ge., Ke. und Conjunct.		schwach	+	

Fall II.

Huhn, weiß, Wyandotte, aus Ueberlingen am Bodensee: Starke croupöse-diphtherische Entzündung der Maul- und Rachenschleimhaut.

Huhn 5	Bel. v. St. H.	3. 9.	Ka., Ge., Ke.		—	—	Geringe diphtherische Beläge der Maulschleimhaut
" 6	dgl.	3. 9.	Ma., Na., Ra.		schwach	+	

Impftiere	Impfmateri- al	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
					Diphtherie	Pocken	

Fall III.

Hahn, schwarz, Langshan, aus Hanau-Kesselstalt: Starke Beläge im Maule, schleimig-eiterige Entzündung sämtlicher Kopfschleimhäute.							
Hahn 15	Bel. v. St.H.	19. 10.	Ka., Ge., Ke.		—	—	
Huhn 14	dgl.	19. 10.	Ma., Na., Ra.		schwach	—	Leichte Beläge der Mauleschleimhaut
"	"	19. 10.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		schwach	—	Leichte Beläge der Mauleschleimhaut
"	"	20. 10.	sk.		+	—	Vorübergehendes Unwohlsein, lokale Absceßbildung
"	"	24. 10.	sk.		—	—	Vorübergehendes Unwohlsein, schwartige Verdickung der Haut an der Impfstelle

Fall IV.

Goldfasan, Hahn, aus Mülheim i. Elsaß: Sämtliche Kopfhöhlen ausgefüllt mit trockenen, gelben Entzündungsprodukten.							
Hahn 19	Bel. v. St.H.	24. 10.	Ma., Na., Ra., später Ka., Ge., Ke.		schwach	—	Leichte Beläge der Mauleschleimhaut
"	dgl.	29. 10.	Ma., Na., Ra. und Ka., Ge., Ke.	2. 2. 1909	+	—	Eiterig-schleimige Entzündung der Nasen- u. Rachen- schleimhaut; leichte Darmentzündung
"	"	10. 11.	Ma., Na., Ra. und Ka., Ge., Ke.	23. 12.	+	—	Schleimig-eiterige Entzündung der Nasen- u. Rachen- schleimhaut. Todesursache: Darmentzündung in- folge von Würmern
"	"	29. 10.	sk.		—	—	Lokale Absceßbildung; Nekrose der Haut an der Impfstelle
"	"	10. 11.	sk.		—	—	Lokale Absceßbildung

Fall V.

Hahn, weiß, Langshan, aus Großbottwar-Württemberg: Entzündung der Nasen- und Rachenschleimhaut, Beläge auf der Kropfschleimhaut.							
Hahn 20	Bel. v. St.H.	28. 10.	Ka., Ge., Ke., Ma., Na., Ra. und Conjunct.	19. 11.	+	—	Eiterige Conjunctivitis, Empyem der Infraorbital- höhlen, leichte Darmentzündung
"	dgl.	31. 10.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		+	—	Nasenausfluß, leichte Beläge der Mauleschleimhaut
"	"	2. 11.	iv.		—	—	Vorübergehendes Unwohlsein, leichter Durchfall

Impftiere	Impfmateri- al	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
					Diphtherie	Pocken	

Fall VI.

Huhn, weiß, Landrasse, aus Vaihingen a. F.-Württemberg: Starke Beläge im Schnabelwinkel, auf Rachen- und Gaumenschleimhaut.							
Huhn 29	Bel. v. St. H.	27. 11.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.	30. 11.	+	—	Eiterige Entzündung der Rachen-, Nasen- u. Neben- höhlenschleimhaut; Beläge am Kehlkopf
Hahn 30	dgl.	27. 11.	dgl.	15. 12.	+	—	Eiterige Conjunctivitis; eiterige Entzündung der Nasen- u. Nebenhöhlenschleimhaut; diphtherische Entzündung der Maulschleimhaut
" 33	"	30. 11.	Ka., Ge., Ke.		+	+	Starke Pocken auf Ka., Ge. und Ke.; Beläge der Gaumenschleimhaut vom Schnabelwinkel aus
Huhn 34	"	30. 11.	dgl.		+	+	Starke Pocken auf Ka., Ge., Ke. und Augenlidern; Beläge der Gaumenschleimhaut, eiterige Con- junctivitis; rechtsseitige eiterige Panophthalmie; Nasen- ausfluß
Hahn 36	"	5. 12.	dgl.		+	—	Diphtherische Beläge auf Gaumen- und Zungen- schleimhaut
" 40	Bel. v. H. 30	15. 12.	Brusthaut		—	+	Starke Pockeneruption auf der Brust
" 41	dgl.	15. 12.	Ka., Ge., Ke.		+	+	Pocken auf Ka., Ge. und Ke.; Uebergreifen auf Gaumen in Gestalt leichter diphtherischer Beläge
" 35	Bel. v. St. H.	5. 12.	sk.		—	—	Vortübergehendes Unwohlsein
Huhn 50	zu Hahn 33 am 4. 1. 09	in den Käfig gesetzt			—	—	

Fall VII.

Huhn, schwarz, Langshan, aus Holzkirchen-Oberbayern: Schleimig-seröser Nasenausfluß, gelbe Beläge am Kehlkopfgefang.							
Hahn 49	Kohabitation mit St. H.	22. 12.			+	—	Starke Beläge der Gaumenschleimhaut
Huhn 62	Bel. v. Hahn 49	19. 1.	Ka., Ge., Ke	15. 2.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; eiterige Conjunctivitis; eiterige Entzündung der Nasen- und Nebenhöhlen- schleimhaut; Beläge auf Gaumenschleimhaut
Hahn 58	Pock. v. Huhn 62	18. 2.	Ka., Ge., Ke., Ma., Na., Ra.		+	—	Diphtherische Beläge auf Maul- u. Rachenschleimhaut
Huhn 75	Pock. v. Hahn 62	18. 2.	dgl.		+	—	Geringgradige Pockeneruption
" 76	dgl.	8. 2.	Ka., Ge., Ke.		—	+	Starke Beläge auf Maul-, Rachen- und Kehlkopf- schleimhaut, eiterige Entzündung der Nasen- und Nebenhöhlenschleimhaut, eiterige Conjunctivitis, Pocken auf Ka., Ge., Ke.
Hahn 80	Milz u. Herzblut v. Huhn 62	16. 2.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		—	—	Leichte Pockeneruption an den Schnabelwinkeln und auf den Kehlappen
Huhn 81	Leber v. Huhn 62	16. 2.	Ka., Ge., Ke.		—	+	

Impftiere	Impfmateriale	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
					Diphtherie	Pocken	
Fall VIII.							
Huhn 37	Huhn, rebhuhnfarben, Italiener, aus Mettingen-Württemberg; Bel. v. St. H.	7. 12.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.	22. 12.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; diphtherische Entzündung der Maulschleimhaut, eiterige Entzündung der Nasen- und Nebenhöhlenschleimhaut
Huhn 46	Bel. v. Hahn 37	18. 12.	Ka., Ge., Ke.		+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; diphtherische Beläge der Gaumenschleimhaut, Conjunctivitis
Hahn 47	dgl.	22. 12.	dgl.	8. 1.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; Beläge der Gaumenschleimhaut
Huhn 48	"	22. 12.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.	7. 1.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; starke Beläge der Maul- und Rachenschleimhaut, eiterige Rhinitis; Empyem der Infraorbitalhöhlen
Hahn 52	Bel. v. Huhn 48	7. 1. 1909	Ka., Ge., Ke.	2. 2.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; eiterige Conjunctivitis, links eiterige Panophthalmie, eiterige Rhinitis, Beläge der Maulschleimhaut
Huhn 59	Pock. v. Huhn 46	16. 1.	dgl.	8. 2.	+	+	Pocken auf Ka., Ge., Ke.; eiterige Conjunctivitis, Beläge der Maulschleimhaut, eiterige Rhinitis, Empyem der Nebenhöhlen
" 53	Bel. v. Huhn 48	7. 1.	Brusthaut		+	+	Pocken auf der Brust; diphtherische Beläge auf Gaumen-, Rachen- und Kehlkopfschleimhaut
Hahn 60	Pock. v. Huhn 46	16. 1.	Ma., Na., Ra.		+	—	Beläge auf Maul- und Rachenschleimhaut, Rhinitis
Huhn 61	dgl.	16. 1.	Brusthaut		—	—	
" 51	zu Huhn 46 am 4. 1. in den Käfig gesetzt				+	schwach	Diphtherische Beläge auf Maul- und Rachenschleimhaut; Nasenausfluß und Conjunctivitis; eine geringe Pocke am linken Schnabelwinkel
" 71	Milz u. Herzblut v. Hahn 52	2. 2.	Ka., Ge., Ke.		—	—	
" 72	dgl.	2. 2.	dgl.		—	—	
" 73	Darminhalt v. Hahn 52	2. 2.	"	19. 3.	+	+	Eiterige Rhinitis, Empyem der Nebenhöhlen, Beläge auf Kehlkopfschleimhaut, Schleimansammlung in der Trachea (Auftreten der Erscheinungen erst 4 Wochen nach der Impfung)
" 74	dgl.	2. 2.	"		—	—	
" 77	Leber v. Huhn 59	8. 2.	"		—	—	
" 78	dgl.	8. 2.	"		+	+	Eiterige Rhinitis, Pocken über dem Schnabelwinkel

Impftiere	Impfmateriel	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
					Diphtherie	Pocken	
Fall IX.							
Hähnchen a, gesperbert, Landrasse, aus Biebrich a. Rh.: a) Conjunctivitis, Entzündung der Nasen- und Nebenhöhlenschleimhaut.							
Hähnchen b, gesperbert, Landrasse, aus Biebrich a. Rh.: b) Entzündung sämtlicher Kopfschleimhäute, starke Schleimsekretion, eitrige Auflagerung auf der Bauchwand.							
Hahn 38	Schleim von St.H. a	12. 12.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		schwach +	—	Nasenausfluß, leichte Beläge auf Mauleschleimhaut
" 39	dgl.	12. 12.	dgl.		schwach +	—	Conjunctivitis, Empyem der linken Infraorbitalhöhle
" 44	Schleim von St.H. b	16. 12.	Ka., Ge., Ke.		—	—	
" 45	dgl.	16. 12.	dgl.		—	—	

Fall X.

Huhn, weiß, Italiener, aus Neckarsulm: Schleimig-eitrige Conjunctivitis und Rhinitis, Beläge auf Gaumen- und Kopfschleimhaut.							
Huhn 64	Bel. v. St. H.	26. 1. 1909	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		+	—	Empyem der vorderen Infraorbitalhöhle, Beläge der Rachen- und Mauleschleimhaut; Conjunctivitis; Rhinitis
" 65	dgl.	26. 1.	Ka., Ge., Ke.	11. 2.	+	—	Eitrige Entzündung sämtlicher Kopfschleimhäute; Belag auf der Zungenbasis
Hahn 66	"	28. 1.	dgl.		—	—	
" 67	"	28. 1.	Ka., Ge., Ke. und Brust		—	—	
" 79	Bel. v. Huhn 65	11. 2.	Ka., Ge., Ke.		—	—	

Filtrationsversuche.

No. des Falles	Impftiere	Impfmateri- al	Datum der Impfung	Art und Ort der Impfung	Datum des Todes	Ergebnis der Impfung		Bemerkungen
						Diphtherie	Pocken	
Fall III	Hahn 17 " 18	Bel. v. St. H. dgl.	20. 10. 20. 10.	Ka., Ge., Ke. Ma., Na., Ra.		— —	— —	
Fall IV	Hahn 24 " 25	Bel. v. St. H. dgl.	31. 10. 31. 10.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra., Con- junctivitis		— —	— —	
Fall V	Hahn 31 " 32	Bel. v. Huhn 20 dgl.	27. 11. 27. 11.	Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.		— —	— —	
Fall VI	Hahn 42 " 43	Bel. v. St. H. dgl.	14. 12. 14. 12.	Ka., Ge., Ke. Ma., Na., Ra.		— —	— —	
Fall VII	Huhn 82 " 83	Pocken von Huhn 62 dgl.	18. 2. 18. 2.	Ka., Ge., Ke. und Brust Ka., Ge., Ke. und Ma., Na., Ra.	24. 3.	— +	+ +	Pocken auf Brust, Kamm und Keh- lappen Eiterige Entzündung der Kopfschleim- häute; Pocken am linken Kehllappen und vorn an der Kambasis
Fall VIII	Huhn 68 " 69	Pocken von Huhn 52 dgl.	28. 1. 28. 1.	Ka., Ge., Ke. Ka., Ge., Ke. und Brust		— —	— +	Links an der Kammspitze eine Pocke

Sektionsbefund: Kehlkopf- und Trachealschleimhaut bis zur Teilungsstelle der Trachea besetzt mit teils zusammenhängenden, teils inselförmig für sich liegenden, dicken, gelben Auflagerungen. Die Nasenhöhlen und Nebenhöhlen sind mit zähem, mit gelben Flocken untermischtem Schleim ausgefüllt.

Huhn 68: gei. 28. Jan. 09 mit Pockenfiltrat von Hahn 52 Fall VIII auf Ka., Ge., Ke.

Es sind keine Veränderungen aufgetreten.

Huhn 69: gei. 28. Jan. 09 mit Pockenfiltrat von Hahn 52 Fall VIII auf Ka., Ge., Ke und Brusthaut.

Am 7. Febr. tritt links an der Kammspitze eine stecknadelkopfgroße Pocke in die Erscheinung, die bis zu Erbsengröße anwächst, dann oberflächlich verschorft und durch Eintrocknen allmählich wieder abheilt.

Ergebnis der Filtrationsversuche. ¹¹

Es wurden von den Fällen III—VIII je zwei Tiere mit Filtrat geimpft. Ein positives Resultat lieferten jedoch nur die Fälle VII und VIII, bei denen mit vollständig neuen Filtern gearbeitet wurde. So viel aber geht aus diesen Versuchen hervor, daß es möglich ist, mit filtriertem Pockenmaterial auf der Haut Pocken und auf der Schleimhaut eine croupös-diphtherische Entzündung hervorzurufen (Fall VII Huhn 82 u. 83, Fall VIII Huhn 69).

3. Kontrollversuche.

Um festzustellen, ob nicht vielleicht schon der Rachenschleim gesunder Hühner pockenähnliche Veränderungen der Haut hervorrufen könne, wurden 4 junge Hühner auf Kamm, Gesicht, Kehllappen und Brusthaut geimpft, indem ihnen der mit einer geringen Mengen steriler physiologischer Kochsalzlösung vermengte Rachenschleim gesunder Hühner genau in derselben Weise eingegeben wurde wie bei den bisher geimpften Tieren. Es wurden in dieser Weise geimpft:

Huhn 54: auf Brusthaut gei. 9. Jan. 09.

Huhn 55: auf Ka., Ge., Ke. gei. 9. Jan. 09.

Huhn 56: auf Brusthaut gei. 9. Jan. 09.

Huhn 57: auf Ka., Ge., Ke. gei. 9. Jan. 09.

Bei keinem der Tiere konnte auch nur die geringste Veränderung wahrgenommen werden.

Ergebnis der Kontrollversuche.

Durch den Rachenschleim gesunder Hühner lassen sich auf der Haut anderer Hühner keine pockenähnlichen Veränderungen hervorrufen. (S. Tabellen p. 225—230.)

C. Zusammenfassung und Ergebnis der Untersuchungen.

Es ist mir gelungen, mit Material von 3 unter 10 natürlichen Geflügeldiphtheriefällen durch Uebertragung der diphtherischen Produkte auf die Haut typische Pocken zu erzeugen.

In den übrigen 7 Fällen ließen sich nur mehr oder weniger starke Schleimhauterkrankungen der Impftiere beobachten, oder es fielen die Versuche vollständig negativ aus. Der Fall II kann aber nicht als vollständig betrachtet werden, da von ihm nur zwei Uebertragungen vorgenommen werden konnten und man, wie die übrigen Versuche lehrten, und wie auch in der Literatur verschiedentlich betont wird, mit einer individuellen Resistenz zu rechnen hat.

Vergegenwärtigen wir uns noch einmal kurz das Krankheitsbild, wie es sich im allgemeinen bei Verimpfung des Diphtheriematerials auf die Haut ergeben hat:

Die Inkubationsdauer wechselt zwischen 4—9 Tagen und beträgt im Mittel 5—6 Tage. Nach dieser Zeit treten auf Kamm, Gesicht und Kehllappen oder auf der Brust entlang den Skarifikationsstrichen stecknadelkopfgroße, matt weißlich glänzende Knötchen auf, die sich rasch vergrößern und Erbsen- bis Haselnußgröße erreichen können. Teilweise

fließen sie ineinander über und sie stellen dann häufig brombeerähnliche warzige Gebilde dar, die auf ihrer Oberfläche verschorfen. Die Lieblingsstellen, an denen derartige Eruptionen am häufigsten zu beobachten waren, sind die Schnabelwinkel, die Kambasis, die Stellen oberhalb der Nasenöffnungen, der Rand der Augenlider und die Umgebung der Ohröffnungen. Im weiteren Verlauf bedeckt sich allmählich das ganze Gesicht mit braunen bis tiefschwarzen, teils nässenden, teils trockenen Schorfen, nach deren Entfernung meist eine ziemlich starke Blutung der offen zutage liegenden, gewucherten Hautpapillen eintritt.

Wenn die Wucherungen im Schnabelwinkel einigermaßen bedeutenden Umfang erreicht haben, so ist stets ein mehr oder weniger starkes Uebergreifen auf die Maulschleimhaut wahrzunehmen. Es bilden sich dann zunächst am Schnabelwinkel, am Uebergang der äußeren Haut in die Schleimhaut, feine, gelbe, strichförmige Auflagerungen, die auf der Gaumenschleimhaut und von da auf der Zungen- und Rachenschleimhaut sich ausbreiten können.

Bei den weniger schwer befallenen oder widerstandsfähigeren Tieren heilen die Veränderungen der Haut durch Eintrocknen und allmähliches Abschilfern der Borken; auch die Beläge der Schleimhaut fallen stückweise ab. Die geheilten Tiere sind gegen weitere Infektionen sowohl am Kopf, als an der Brust oder auf der Schleimhaut, wenigstens in der ersten Zeit nach der Heilung, nicht mehr empfänglich (cfr. Fall VI H. 33, 34, 40, 41; Fall VIII H. 51).

In den schwerer verlaufenden Fällen führen meistens die auf den Augenlidern sitzenden Pocken zu Lidverschuß, eiteriger Conjunctivitis, Trübung der Cornea, eventuell eiteriger Panophthalmie (cfr. Fall VI H. 34; Fall VII H. 62; Fall VIII H. 52 und 59).

Auch nehmen die Veränderungen der Maulschleimhäute größeren Umfang an; es treten starke Schleim- und Eiterbildung in den Nasen- und Infraorbitalhöhlen, Beläge im Kehlkopf ein. Der Tod ist in solchen Fällen die Folge von Ersticken oder der Unfähigkeit der Tiere zur Nahrungsaufnahme (cfr. Fall VII H. 62; Fall VIII H. 59).

Wurden die Hühner zugleich auf Haut und Schleimhaut geimpft, so entwickelten sich meist neben den nur in geringem Maße, in manchen Fällen auch gar nicht zur Entwicklung kommenden Pocken sehr schwere Schleimhautveränderungen, die, in der Mehrzahl der Fälle unter dem Bilde der Diphtherie verlaufend, zum Tode führten (cfr. Fall VI H. 29; Fall VIII H. 37, 48).

Bemerkenswert ist der Fall VII, Huhn 76, bei dem die Impfung nur auf die Schleimhaut vorgenommen wurde und trotzdem neben schwerer Diphtherie auch Pocken zur Entwicklung gelangten. Es ist wohl möglich, daß das Huhn durch Kratzen an den Augen und im Gesicht den Infektionsstoff dorthin übertragen hat. Bei dem auf dieselbe Weise infizierten Hahn 60 (Fall VIII) trat nur eine diphtherische Erkrankung der Schleimhäute ein.

Andererseits zeigt Huhn 53 (Fall VIII), daß auch bei alleiniger Impfung auf die Brusthaut neben Pocken an der Impfstelle diphtherische Beläge auf der Maulschleimhaut sich bilden können. Dagegen blieb bei Huhn 40 (Fall VI) die Erkrankung lediglich eine lokale.

Bei Zusammenbringen gesunder und pockenkranker Tiere findet eine Infektion in erster Linie auf die Schleimhaut statt. Es ist demnach die Schleimhaut für die natürliche und künstliche Infektion mit Pockenmaterial empfänglicher als die äußere Haut. Dies zeigt Huhn 51 (Fall VIII), das sich durch Kohabitation mit einem schwer pockenkranken Tiere diph-

therische Erkrankung der Schleimhäute zuzog. Von diesen ausgehend, trat eine kleine Pocke am linken Schnabelwinkel auf. Das Huhn war nach seiner Genesung für erneute Pockeninfektion nicht mehr empfänglich.

Von den Tieren, die außer Pocken eine diphtherische Erkrankung der Schleimhäute zeigten, wurden Impfungen, und zwar mit Herzblut, Milz- und Lebergewebe angestellt. Außerdem wurden zwei Uebertragungsversuche mit Darminhalt vorgenommen.

Letztere, ebenso wie die Versuche mit Herzblut und Milz, verliefen negativ. Der negative Ausfall der mit Darminhalt vorgenommenen Versuche läßt bei der geringen Anzahl der Fälle (Huhn 73 und 74) keine weiteren Schlüsse zu. Dagegen legen die Resultate mit Herzblut und Milz doch die Vermutung nahe, daß diese Organe die Krankheitserreger vielleicht nur vorübergehend beherbergen.

Die Leber jedoch enthält, wie die Versuche mit diesem Organe ergaben, das Virus auch nach dem Tode noch (cfr. Fall VIII H. 78; Fall VII H. 81).

Die Filtrationsversuche haben nur bei Huhn 69 (Fall VIII) und Huhn 82 und 83 (Fall VII) positive Ergebnisse geliefert. Daß dieser Versuch bei Fall VI vollständig versagte, hängt vielleicht mit der Verschiedenheit und ungleichen Porosität der Berkefeld-Filter, die mir zur Verfügung standen, zusammen.

Das Inkubationsstadium war bei Verwendung filtrierten Materials erheblich länger als bei unfiltriertem, es umfaßte 10—15 Tage, eine Beobachtung, die auch durch Juliusberg und andere bestätigt wird.

Daß auch mit filtriertem Material diphtherische Beläge auf der Schleimhaut hervorgerufen werden können, beweist der Versuch mit Huhn 83. Die bei diesem Huhne auftretenden starken Diphtheriemembranen waren zweifellos primärer Natur und nicht eine Folgeerscheinung der verhältnismäßig leichten Pockeneruption, da die Entwicklung nachweislich von den Impfstichen in der Schleimhaut ausging.

Wenn wir die verschiedenen hier zum Schlusse nochmals in kurzem Ueberblick zusammengestellten Resultate der Untersuchungen betrachten, so müssen wir zu der Ueberzeugung gelangen, daß sich in den Fällen VI, VII und VIII, die ursprünglich lediglich als Diphtheriefälle angesehen wurden, das klinische Bild von Diphtherie und Pocken unmöglich mehr auseinanderhalten läßt. Je nach der Art der Impfung steht bald die Erkrankung der Schleimhäute, bald die der Haut im Vordergrund; meist treten beide zusammen auf. Jedoch zeigen sich die Schleimhäute stets empfänglicher für die Infektion. Es lassen sich durch Pocken diphtherische Beläge der Schleimhäute und durch letztere wieder Pocken erzeugen.

Die Fälle VII und VIII waren ursprünglich reine Diphtheriefälle, da sowohl bei den Tieren, die ich zu Gesichte bekam, wie auch in Fall VIII nach dem Berichte des Besitzers bei den übrigen erkrankten Tieren keinerlei pockenartigen Erscheinungen zur Beobachtung gelangt waren.

Es dürfte deshalb die Behauptung von Fally, daß die Diphtherieerkrankungen des Geflügels chronische Krankheiten darstellen, welche die Schleimhäute, aber nicht die äußere Haut ergreifen, so allgemein ausgedrückt nicht richtig sein, wie auch schon die Untersuchungen von Carnwath ergeben haben.

Aus meinen Untersuchungen lassen sich folgende Schlußsätze ableiten:

- 1) Es ist möglich, mit diphtherischen Belägen von Hühnern, die an der als Geflügeldiphtherie beschriebenen Krankheit leiden, typische Geflügelpocken zu erzeugen.

2) Die Geflügelpocken sind keine gesonderte Krankheit, sondern gehören zur Geflügeldiphtherie und sind ätiologisch nicht von ihr zu trennen.

3) Nach dem klinischen Bilde tritt die Geflügeldiphtherie in 3 Formen auf: als reine Schleimhauterkrankung, als reine Hauterkrankung oder als Kombination der Hauterkrankung mit Schleimhauterkrankung.

Die vorstehende Arbeit wurde im Institut für Seuchenlehre der Königl. Tierärztlichen Hochschule in Stuttgart angefertigt. Dem früheren Vorstand des Instituts, Herrn Prof. Dr. Zwick, danke ich für die Ueberweisung der Arbeit sowie für das meinen Untersuchungen entgegengebrachte lebenswürdige und fördernde Interesse. Auch dem derzeitigen Institutsvorstande, Herrn Prof. Dr. Reinhardt, sei an dieser Stelle für die vielfache Unterstützung meiner Arbeit Dank gesagt.

Literatur.

- 1) Apolant, Virchows Arch. Bd. 174. 1903.
- 2) Bollinger, Virchows Arch. Bd. 58. 1873.
- 3) Bonfatti, zit. nach 27.
- 4) Burnet, Annales de l'Inst. Past. 1906.
- 5) Carnwath, Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1908.
- 6) Cory, Alab. College Sta. Bull. 136, Ref. i. Exper. Stat. Rec. Vol. 18. 1906/07.
- 7) Csokor, Oesterr. Vierteljahrsschr. f. wiss. Vet.-Kunde. Bd. 60. 1883.
- 8) Fally, Annales de méd. vét. 1908. No. 2.
- 9) Friedberger, Dtsch. Zeitschr. f. Tiermed. 1879.
- 10) Friedberger u. Fröhner, Lehrb. d. spez. Pathol. u. Therap. d. Haustiere. Bd. 2. 1908.
- 11) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 22. 1897.
- 12) Hauser, Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908.)
- 13) Heusinger, Recherches de pathol. comp. Vol. 1. 1847.
- 14) Hutyra-Marek, Spez. Pathol. u. Therap. d. Haustiere. 1905.
- 15) Jowett, Epitheliom. contag. (Journ. of comparat. Pathol. a. Therap. Vol. 22. March 1909.)
- 16) Juliusberg, Dtsch. med. Wochenschr. 1904.
- 17) Kinsley, Amer. vet. Rev. Vol. 30. p. 1438, zitiert nach Ellenb. Schütz, Jahresber. 1907.
- 18) Kitt, Bakterienkunde. 1908. 5. Aufl.
- 19) Klee, Geflügelkrankheiten. 1905. Krankheiten u. Sektionsber. der Geflügelbörse. No. 82. 94.
- 20) Klein, zit. nach 27.
- 21) Lipschütz, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. Heft 7.
- 22) Löwenthal, Dtsch. med. Wochenschr. 1906. No. 17.
- 23) Loiv et Ducloux, Annal. de l'Inst. Past. Vol. 8. 1894.
- 24) Marx u. Sticker, Dtsch. med. Wochenschr. 1902; 1903.
- 25) Mingazzini, zit. nach 34.
- 26) Nocard-Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. 1903.
- 27) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1889.
- 28) Polowinkin, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. 27. 1901.
- 29) Reinemann, Berlin. Arch. Bd. 19. 1892. p. 321.
- 30) Reischauer, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.
- 31) Rivolta e Delprato, L'ornitologia. 1880; zit. nach 34.
- 32) Röhl, Lehrb. d. Pathol. u. Therap. d. Haust. 3. Aufl. Bd. 1. 1867.
- 33) Rohlwes, zit. nach 27.
- 34) Salmon, Diseases of poultry. Washington 1899; zit. nach 29.
- 35) Sanfelice, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897.
- 36) Spinola, Handb. der spez. Pathol. u. Therap. f. Tierärzte. Bd. 2. 1858.
- 37) Streit, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 46. 1904.
- 38) Zürn, Die Krankheiten des Hausgeflügels. Leipzig 1882.

*Nachdruck verboten.***Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.****X. Mitteilung. Schluß¹⁾.**

Von Dr. E. Saul, Berlin.

Der Widerspruch gegen die parasitäre Aetiologie des Carcinoms ist gescheitert, weil die Opponenten nicht in der Lage waren, die durch eine große Zahl hervorragender Autoren gestützte Behauptung zu widerlegen, daß das Carcinom eine übertragbare Krankheit ist, die gelegentlich in seuchenartiger Verbreitung auftritt. Auch gestattete das Beispiel des Kohlkrebsses, den Nachweis zu führen, daß es parasitäre Krankheitsherde gibt, die ebenso, wie die carcinomatösen Primärtumoren und ihre Metastasen, unizentrisch wachsen (vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 522.) Endlich lieferte das Studium des Kohlkrebsses für die Bewertung der so oft diskutierten Zelleinschlüsse²⁾ bei Carcinomen eine sichere Grundlage, weil die Kohlkrebsparasiten intrazellulär als Granula oder als Vakuolen erscheinen können (vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 523 u. ff.). Den Einwand, daß granuläre und vakuoläre Zelleinschlüsse in allen möglichen normalen und pathologischen Gewebekomplexen gefunden werden, habe ich durch den Hinweis widerlegt, daß aus der morphologischen Uebereinstimmung dieser Gebilde nicht ihre Identität folgt (vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 419.)

Gegenüber der Behauptung Bashfords³⁾, daß eine Zunahme der Carcinomfrequenz nicht erwiesen sei, nehme ich wiederholt Bezug⁴⁾ auf die Ziffern der preußischen Statistik. Es starben im Königreich Preußen an Krebs und anderen Neubildungen

im Jahre 1895: 16 850 Personen (an Krebs allein: vacat)⁵⁾

„ „ 1905: 25 704 „ („ „ „ 23 115)

„ „ 1906: 26 498 „ („ „ „ 23 906)

„ „ 1907: 28 034 „ („ „ „ 25 100)

Die Jahre 1895 und 1905 differieren um $8\,854 = 52,5$ Proz.

„ „ 1895 „ 1906 „ „ $9\,648 = 57$ „

„ „ 1895 „ 1907 „ „ $11\,184 = 66$ „

Es wurden im Königreich Preußen gezählt

im Volkszählungsjahr 1895: 31 855 123 Personen

1905: 37 278 820

Die Jahre 1895 und 1905 differieren um $5\,423\,697 = 17$ Proz.

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 427 usw.

2) Virchow beschrieb als erster die vakuolären Zelleinschlüsse bei Carcinomen. (Vgl. Virchows Archiv. Bd. 1. 1847. — Ebenda Bd. 3. 1851.) Soudakewitsch deutete dieselben als erster in der parasitären Richtung. (Vgl. Annal. de l'Institut Pasteur. 1892.)

3) Medizinischer Kongreß zu Budapest 1909 und Berl. klin. Wochenschr. 1909. No. 36 u. 37.

4) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. Heft 5. p. 416 u. ff.

5) Die an Krebs allein erfolgten Todesfälle werden erst seit dem Jahre 1903 in besonderer Kolonne geführt.

Im Jahre 1903 starben im Königreich Preußen an Krebs allein: 21 258 Personen

1904 „ „ 22 586 „

(Vgl. Medizinisch-statistische Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.)

Demgemäß übertraf die prozentuale Zunahme der Mortalität an Krebs und anderen Neubildungen diejenige der Bevölkerung um mehr als das Dreifache. Weder in den Grundlagen der Statistik noch in den Methoden der Diagnose haben seit dem Jahre 1895 so fundamentale Aenderungen stattgefunden, daß dadurch diese gewaltige Steigerung der ziffernmäßigen Mortalität erklärt werden kann.

Bashford bestreitet nach seinen Erfahrungen das endemische Auftreten epithelialer Neubildungen. Indessen sind derartige Endemien von Borrel, v. Eiselsberg, Lücke, L. Pick und vielen anderen Autoren beschrieben worden (vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 417).

Die einschlägige Literatur bietet Beispiele von Krebskäfigen, Krebshäusern, Krebsstraßen, Krebsdörfern, Krebsstädten. Was die letzteren anbetrifft, so ist z. B. die Mortalitätsfrequenz des Carcinoms im Bezirke Stralsund¹⁾ fast um das Doppelte größer als die Durchschnittsziffer im Königreich Preußen.

Das negative Resultat, welches Bashford erzielte, als er gesunde Mäuse mit Krebsmäusen in einen Käfig sperrte, ist für die Frage der parasitären Aetiologie des Carcinoms bedeutungslos. Dasselbe negative Ergebnis würde Bashford erreicht haben, wenn er malariakranke Tiere mit gesunden zusammengebracht hätte. Viele Krankheiten, die durch Protozoen hervorgerufen werden, sind durch Kontakt nicht übertragbar (Malaria, Recurrens, Schlafkrankheit, Surra, Nagana usw.).

Den früher mitgeteilten historischen Daten (vgl. Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 14. p. 494 u. ff.) möchte ich folgende hinzufügen: Die gegenwärtige Epoche der Lehre vom Carcinom wurde bekanntlich durch Thierschs Veröffentlichung „Ueber den Epithelialkrebs“ (Leipzig 1865) inaugurirt. Nachdem Waldeyer in zwei großen Untersuchungen (Virchows Arch. Bd. 41. 1867. Ebenda Bd. 55. 1872) die Befunde von Thiersch bestätigt und ergänzt hatte, erachtete man fast allseitig die These als zutreffend, daß das Carcinom ausschließlich eine epitheliale Erkrankung sei. Virchow²⁾ bezeichnete diese Lehre noch im hohen Alter als „entwicklungsgeschichtlichen Mystizismus“. In seiner Gefolgschaft befinden sich nur Kromayer und Krompecher, während die anderen Autoren bestreiten, daß metaplastische Prozesse in dem von Virchow behaupteten Umfange stattfinden können. Wenn gleich die Binde-substanzen im letzten Grunde epithelialer Herkunft sind, so bleibt doch dieses genetische Verhältniß auf das embryonale Leben beschränkt. Eine rückläufige Entwicklung von Binde-substanzzellen zu epithelialen Formelementen erfolgt weder im embryonalen noch im post-embryonalen Leben.

Alle Aeüßerungen Virchows, die sich auf die Aetiologie des Carcinoms beziehen, lassen unzweideutig die Idee eines besonderen Virus erkennen. (Vgl.: Die krankhaften Geschwülste. Bd. 1. 1863. p. 56. 69. 79. — Die Cellularpathologie. 4. Aufl. 1871. p. 258. 259. 260. 543. 544. 545. — Virchows Arch. Bd. 111. 1888. p. 18.) Und Virchows Assi-

1) Während im Königreich Preußen von 10 000 Lebenden durchschnittlich 7,39 an Krebs starben, beträgt die entsprechende Ziffer im Bezirke Stralsund 13,50. (Vgl. Medizinal-statistische Nachrichten des Königlich Preussischen Statistischen Landesamtes. Berlin 1909. p. 59.)

2) Virchows Archiv. Bd. 79. 1880. p. 193 u. ff.

stent Hansemann bemerkt bezüglich der Zelleinschlüsse bei Carcinomen, daß es sich nicht darum handle, nachzuweisen, daß es keine Parasiten sind, sondern darum, daß es Parasiten sind. (Vgl. Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 1. p. 14.)

Schlusssätze.

1) In Fibromen¹⁾, Kystomen, Carcinomen und Sarkomen parasitiert eine Sonderklasse von Organismen. Dieselben können extracellulär in Amöben- und Cystenformen, intracellulär als Granula oder als Vakuolen erscheinen. Die Amöben- und Cystenformen werden durch die Fixierung und Einbettung zerstört.

(Vgl. Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 14. p. 494 u. ff.; Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 14. p. 406.)

2) Protozoen, die chronische Infektionen erregen, können unter Einwirkung des lebenden Organismus Entwicklungsformen gewinnen, durch welche sie dem Nachweis innerhalb der Gewebe entzogen sind.

(Vgl. Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 17. p. 697 u. ff.)

3) Es gibt parasitische Protozoen, die

a) nur im Amöbenstadium infektiös sind;

b) nur embryonale Zellen infizieren;

c) in den infizierten Zellen als Granula oder als Vakuolen erscheinen.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. Heft 6.)

4. Durch Impfungen mit Kohlkrebsparasiten können bei den üblichen Versuchstieren hervorgerufen werden:

a) akute tödliche Intoxikationen;

b) Granulationsgeschwülste;

c) interstitielle lymphatische und bindegewebige Wucherungen in den Nieren und Lungen, die das Bild der chronischen interstitiellen Nephritis und fibrösen Peribronchitis hervorrufen;

d) kachektische Erscheinungen, die sich in der Form extremster Abmagerung darstellen und zum Tode führen;

e) ulzerierende und gangränisierende Prozesse;

f) Darmblutungen ohne erkennbare anatomische Grundlage.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. Heft 7. p. 666 u. ff.)

5) Aehnlich wie die Tuberkulose folgt das Carcinom mit Vorliebe bestimmten Berufen, und zwar der Gärtnerei, sowie der Land- und Forstwirtschaft.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. Heft 5. p. 418.)

6) Aus der einschlägigen Kasuistik ist hervorzuheben, daß nach der Bekundung von Virchow und Lücke in dem Trinkwasser von Gegen-

1) Vgl. Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse d. allg. patholog. Morphologie. Bd. 1. 1895 p. 306.

Lubarsch: „Gerade bei den Fibromen liegt der Gedanke einer entzündlichen Entstehung besonders nahe, weil sie in der Struktur häufig Aehnlichkeit mit Narbengewebe besitzen und unter solchen Umständen auftreten, wo Entzündung einen Einfluß gehabt haben kann. Bei den Fibromen der Marksubstanz hat bereits Virchow auf die bisweilen sehr deutlichen Beziehungen zu Entzündungen hingewiesen.“

den, wo das Adenom der Schilddrüse endemisch auftritt, ein Agens enthalten sein muß, das wie ein „Miasma“ in den menschlichen Organismus eindringt.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. Heft 5. p. 419.)

7) Die experimentelle Krebsübertragung ist als Transplantation mit Infektion zu deuten.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. Heft 4. p. 443.)

8) Wie die Art der Metastasierung lehrt, werden die Carcinomkeime in der Blutbahn, die Sarkomkeime in der Lymphbahn avirulent.

Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. Heft 4. p. 443.)

9) Die klinische und anatomische Variabilität der Impfcarcinome erinnert an die Variabilität tuberkulöser Produkte.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. Heft 1. p. 86 u. ff.)

10) An dem Beispiel eines exquisiten Epithelschmarotzers, des *Coccidium oviforme*, wurde gezeigt, daß dieser Parasit extracellulär in cystischen oder amöboiden Formen, intracellulär als Granulum oder als Vakuole erscheinen kann. Die Cysten- und Amöbenformen werden durch die Fixierung und Einbettung zerstört.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 4. p. 427 u. ff.)

11) Durch subkutane Implantation von Teilen des *Cysticercus fasciolaris* werden bei geeigneten Versuchstieren akute tödliche Intoxikationen oder Neubildungen hervorgerufen, die auf der Grenze von Fibrom, Sarkom und Granulationsgeschwulst stehen. Für die Geschwulstgenese kommen die giftigen und chemotaktischen Eigenschaften der Fettkörper des *Cysticercus fasciolaris* und die Fremdkörperwirkung seiner „Kalkkörper“ in Frage.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. Heft 4. p. 444. Ebenda. Bd. 49. 1909. Heft 1. p. 80 u. ff. Ebenda. Bd. 50. 1909. Heft 4. p. 433 u. ff.)

12) v. Hansemann¹⁾ hat bezüglich der atypischen Epithelwucherungen, die Bernhard Fischer erzeugte, als erwiesen erachtet, daß bestimmte chemische Stoffe, wie das mit „Scharlach R“ gesättigte Olivenöl, auf bestimmte Zellarten eine spezifisch chemotaktische Wirkung ausüben, und daß solche Substanzen, dauernd produziert, für die Geschwulstentstehung ausschlaggebend sind und die Malignität auslösen können. — An dem Beispiele des *Coccidium oviforme* wurde gezeigt, daß Epithelschmarotzer eine derartig dauernde Produktion von Fettsubstanzen leisten.

(Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 4. p. 427 u. ff.)

Ich gebe der Genugtuung Ausdruck, daß es mir möglich war, diese Polemik in 7-jähriger Arbeit durchzuführen. Der Redaktion des Centralblattes zolle ich den schuldigen Dank.

1) Naturforscherversammlung. Stuttgart 1906.

Nachdruck verboten.

Aufnahmefähigkeit der Muriden gegenüber der Tollwut durch Ingestion des Wutmaterials je nach den verschiedenen Monaten des Jahres.

Immunisierung ab ingestis gegen die Infektion ab ingestis.

Von Prof. Claudio Fermi.

Da ich in meinen Versuchen deutliche Unterschiede in der Aufnahmefähigkeit der Muriden der Wutinfektion gegenüber durch Ingestion des Wutmaterials wahrgenommen hatte, dachte ich, daß die Raumtemperatur vielleicht zum Teil hieran schuld sei. Ebenso ist bekanntlich die Morbidität bei den verschiedenen natürlichen Infektionen, die besonders auf dem Wege des Atmungsapparates und des Verdauungsapparates zustande kommen, sehr verschieden, je nach den Monaten und den Jahreszeiten.

Ich hielt es daher von Interesse, die Mortalität an Tollwut unter den Muriden per ingestionem je nach den verschiedenen Monaten des Jahres zu studieren. Die nachstehende Tabelle bringt einen Ueberblick über die zahlreichen, an 331 Tieren angestellten Versuche:

	Zahl der Tiere	Tote	Prozent der Toten
Januar	13	6	46
Februar	7	4	57
März	10	6	60
April	10	7	70
Mai	10	1	10
Juni	45	10	22
Juli	30	6	20
August	12	0	0
September	8	0	0
Oktober	10	0	0
November	{ 1. Dekade 11	0	0
	3. Dekade 20	17	55
Dezember	10	8	80
	331		

Schlußfolgerung: Aus dieser Tabelle geht hervor, daß man die stärkste Mortalität in den kalten Monaten haben würde, die sich zwischen der 3. Dekade des Novembers und Aprils befinden (40 und 80 Proz.). Die niedrigste Mortalität käme auf die warmen Monate Mai, Juni, Juli (10 und 20 Proz.) und speziell im August, September, Oktober und in der 1. Dekade des Novembers mit einer Mortalität gleich Null.

331 Tiere und die Versuche während eines Jahres schienen mir nicht genügend, um eine so delikate Frage zu entscheiden, deshalb hielt ich es für notwendig, den ganzen Versuch während eines anderen Jahres zu wiederholen.

Zu gleicher Zeit wollte ich auch das Verhältnis der Immunisierung per ingestionem gegen die subkutane Straßenvirusinfektion noch beobachten. Die nachstehende Tabelle bringt die erzielten Resultate.

Schlußfolgerung: Wie man sieht, bestätigen die Resultate dieses Versuches zum größten Teil die des vorigen, denn in der Tat hatte man in den Monaten Juni und Juli bei den Muriden eine geringere Sterblichkeit per ingestionem. Wenn die Resultate dieses 2. Versuches nicht so deutlich

Monate	Ingestion von fixem Virus			Fixe Virusingestion und nachfolgende Infektion von Straßenvirus		
	Mortalität		Inkubation	Mortalität		Inkubation
	absolute	Prozent		absolute	Prozent	
Januar	5:10	50	10—12 Tage	3:5	60	12—13 Tage
Februar	Temp. 9° 10:10	100	9—12 "			"
	Temp. 15° 8:10	80	8—9 "			"
Juni	3:10	30	9—17 "	2:7	28	19 "
Juli	3:10	30	8—10 "	3:7	42	17 "
August	4:8	50	10 "	4:4	100	18 "
September	4:10	40	9 "	6:6	100	14 "
Oktober	5:10	50	11 "	4:4	100	10 "
November	4:10	40	8—11 "	4:4	100	17—18 "
Dezember	5:10	50	9—10 "	2:4	50	11 "

sind wie die des vorigen, so liegt das daran, daß die Raumtemperatur, in der diesmal die Tiere gehalten wurden, auch während der kalten Monate etwas hoch war, sie erreichte 18—21°. In den beiden während des Februars absichtlich bei einer Temperatur von 9—15° angestellten Versuchen stieg die Sterblichkeit sogleich aufs Doppelte, indem sie 80—100 Proz. erreichte.

Inkubationsperiode nach den verschiedenen Monaten des Jahres bei den mit Virus fixe subkutan infizierten Kaninchen.

In Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der früheren Forschungen fand ich, daß die Inkubationsperiode viel kürzer ist in den Wintermonaten, dann käme der Frühling und der Herbst, am längsten wäre sie im Sommer.

In der Tat wiesen von 26 im Dezember, Januar und März geimpften Kaninchen 7 eine Periode von 4 Tagen, 7 von 5 und 10 von 6 Tagen, 1 von 7, 1 von 9 Tagen und endlich ein anderes Ende März eine Periode von 9 Tagen auf. Im April hingegen wiesen von 13 Kaninchen 1 nur eine Inkubationsperiode von 7 Tagen, 1 von 6 Tagen, 2 von 7 Tagen, 5 von 8 Tagen und 3 von 10—12 Tagen auf. Auch im Monat Mai wiesen von 6 Kaninchen 3 eine Inkubationsperiode von 7 Tagen, 1 von 8 Tagen und 2 von 11 Tagen auf.

Im Juni wies von 7 Kaninchen nur 1 eine Inkubationsperiode von 7 Tagen auf, während die anderen am 7. und 9. Tage Paralyse aufwiesen; 1 erreichte sogar 16 Tage, welches das Maximum darstellt.

Die Inkubationsperiode im Juli schwankt zwischen dem 8. und 10. Tage; mit September beginnt dieselbe abzunehmen, denn 3 geimpfte Kaninchen wiesen eine Inkubationsperiode von 6—7 Tagen auf. Im November wurden nur 2 Kaninchen geimpft, die folglich nicht berücksichtigt wurden.

Es wäre ohne Zweifel interessant, diese Studien an anderen Tieren und am Menschen fortzusetzen.

Immunisierung mittels Aufnahme normaler Nervensubstanz gegen die Infektion ab ingestis von fixem Virus bei den Muriden.

Ebenso wollte ich probieren, ob die Aufnahme normaler Nervensubstanz imstande sei, die Mäuse gegen die nachfolgende Infektion ab ingestis des fixen Virus zu immunisieren.

Zu diesem Zwecke verabreichte man am 21. Jan. 1908 10 weißen Mäusen je 1,5 g Lammgehirn täglich 30 Tage hindurch und am 21. Febr. verabreichte man denselben während weiterer 30 Tage dieselbe Menge frischen, virulenten, fixen Virus.

Keine einzige dieser Mäuse zog sich die Tollwut zu, während 20 andere Mäuse, die direkt mit fixem Virus genährt worden waren, im Verhältnis von 75 Proz. innerhalb der ersten 9—12 Tage der Aufnahme starben.

Von 10 nach der Aufnahme von normaler und Wutnervensubstanz am Leben gebliebenen Mäuse wurde am 21. März subkutan die Hälfte mit Straßenvirus und die andere Hälfte mit fixem Virus infiziert. Sämtliche 10 Tiere blieben am Leben.

Folglich wurden durch Aufnahme per os von normaler Nervensubstanz sämtliche im Versuch sich befindenden Mäuse gegen eine nachfolgende Infektion ab ingestis von fixem Virus immunisiert. Die auf diese Weise 2 Monate lang mit normaler und Wutnervensubstanz immunisierten Tiere widerstanden alle einer nachfolgenden subkutanen Infektion durch Straßen- und fixes Virus.

Alles dies, merken wir es wohl, habe ich bei Mäusen erzielt; was bei anderen Tieren geschieht, weiß ich nicht.

Nachdruck verboten.

Ueber Befunde von Darmspirochäten beim Menschen.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg.
Leiter: Med.-Rat Prof. Dr. Nocht.]

Von Dr. H. Werner,

Stabsarzt der Kaiserlichen Schutztruppe für Deutsch-Südwestafrika, kommandiert als Assistent zum Institut.

Mit 1 Tafel.

Mikroskopische Untersuchungen meines Stuhlganges, welche auf das Vorhandensein von *Entamoeba coli* gerichtet waren, führten mich im Juli d. J. zu der Wahrnehmung, daß sich Spirochäten in meinen Entleerungen befanden. Es sei gleich hier bemerkt, daß der Stuhlgang von normaler Beschaffenheit war und daß ich, abgesehen von einem 1905 in Deutsch-Südwestafrika überstandenen, nur wenige Tage währenden ruhrartigen Dickdarmkatarrh und einem im Jahre zuvor ebendort durchgemachten Typhus, stets darmgesund gewesen bin. Das nähere Studium der Morphologie der Spirochäten ließ mich bald erkennen, daß zwei morphologisch deutlich voneinander unterscheidbare Arten nebeneinander in den Entleerungen anwesend waren.

Spirochäten in menschlichen Darmentleerungen sind bisher von Le Dantec (1 u. 2) und von Mühlens (3) erwähnt worden. Le Dantec beschrieb 1903 eine Dysenterie spirillaire; er macht nur spärliche Angaben über die von ihm beobachtete Spirochäte. Die von Le Dantec beobachtete Spirochäte hat nach seinen Mitteilungen eine Länge von 7—14 μ ; sie tritt vorzugsweise in 3 Formen auf, und zwar als wellige Form von 3 Windungen, als Spiralforn und als „gebuckelte“ Form.

Mühlens erwähnt in seiner Zusammenstellung der bisher bekannt gewordenen Spirochäten kleine Darmspirochäten, welche den Abbildungen

nach mit den von Le Dantec beschriebenen identisch sind und außerdem größere Darmspirochäten, die er bei einem zur Sektion gekommenen Fall von Colitis ulcerosa gesehen hat. Diese größeren Spirochäten „entsprachen im wesentlichen den Typen der in der menschlichen Mundhöhle zu findenden Spirochäten“.

Ueber die Morphologie der in meinem Stuhlgang gefundenen Spirochäten ist folgendes zu sagen:

1) Eine weit gewundene Form. Ihre Länge wechselt zwischen 4,6 und 7,3 μ . Sie ist äußerst flexibel. Die Bewegung ähnelt sehr der eines vom Winde bewegten Wimpels, doch wird daneben auch eine Schraubenbewegung ohne Gestaltsveränderung beobachtet. Die Windungen sind sehr weit; ihre Zahl geht kaum über 2 hinaus, so daß die S-Form häufig zu finden ist (s. Abb. 1, 2, 3). Eine eigenartige Anhäufung dieser Spirochätenart um eine Protoplasamasse herum konnte ich eines Tages lebend sehen; hunderte von Spirochäten waren strahlig um dieses Protoplasmaklumpchen gruppiert, mit dem einen Ende an ihm haftend, dabei in lebhaft wimpernder Bewegung. Es ist dies offenbar ein ähnlicher Vorgang, wie ihn Le Dantec p. 667 seines Lehrbuches abbildet.

2) Eine eng gewundene Form. Diese schon im frischen Präparat leicht von der ersten Art unterscheidbare Spirochätenart hat eine Länge von 3,5—6,1 μ . Die Anzahl der Windungen schwankt im allgemeinen zwischen 2 und 6; die Länge der Windungen beträgt im Durchschnitt der Messungen 1,3 μ , die Windungshöhe 0,58 μ . Die Spirochäte ist erheblich weniger flexibel als die weit gewundene Form, doch ist auch bei ihr schlagende bzw. winkende Biegung des Leibes bei formbeständigen Windungen neben schraubenförmiger Vor- und Rückwärtsbewegung leicht zu erkennen. Eine Teilung, die als Durchtrennung nach vollendeter Längsteilung zu deuten sein dürfte, ist in Figur 5 wiedergegeben. Knopfförmige Anschwellungen, sowie Einrollen der letzten Windungen habe ich wiederholt gesehen (s. Abb. 6).

Die Verschiedenheit der beiden Arten springt besonders deutlich ins Auge, wenn, wie in Abbildung 1 u. 2, beide nahe zusammenliegen. Ob eine der genannten Formen mit der von Le Dantec geschilderten, bisher nicht benannten Form identisch ist, vermag ich bei den sehr spärlichen Angaben Le Dantecs über die Morphologie seiner Spirochäten nicht zu sagen, doch haben die Abbildungen Le Dantecs eine entschiedene Aehnlichkeit mit der von mir beobachteten weit gewundenen Form.

Was die Frage der Identität mit den Spirochäten der Mundhöhle anlangt, so ähnelt die weitgewundene Form keiner der Formen der Mundhöhle, deren weit gewundene Spirochäten (*Spir. buccalis* und die „mittlere Form“ Hoffmann und v. Prowazek) länger sind und mehr Windungen aufweisen.

Die eng gewundene Form ähnelt in mancher Hinsicht der *Spirochaeta dentium*, doch ist die letztere enger gewunden — wenigstens nach den von Schaudinn (5), Hoffmann und v. Prowazek (6) gegebenen Abbildungen, während die Abbildungen von Mühlens und Hartmann (4) annähernd die gleiche Windungsweite aufweisen — und ferner hat *Spirochaeta dentium* mehr Windungen und erreicht eine größere Länge als die von mir beobachtete Spirochätenart.

Zur Frage der Pathogenität der beschriebenen Spirochäten mich zu äußern ist mir bei der Kürze der Beobachtungszeit nicht möglich. Ich



Fig. 1.



Fig. 2.

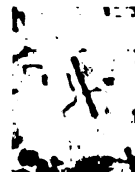


Fig. 3.



Fig. 4.

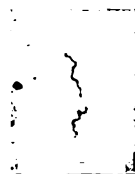


Fig. 5.

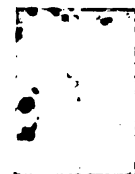


Fig. 6.

habe die weitgewundene Form noch gefunden bei einem Araber, der an Lungentuberkulose litt, aber keine Darmerscheinungen hatte, ferner bei einem an chronischem Dickdarmkatarrh erkrankten Weißen, der sich sein Leiden auf Celebes zugezogen hatte. Bei einem Falle von Sprue wurden von mir in Gemeinschaft mit Herrn Oberarzt Dr. Rodenwaldt beide Spirochätenarten gefunden. Ich habe den Eindruck, daß die beiden Spirochätenarten ziemlich häufig in menschlichen Darmentleerungen vorkommen.

Da die Notwendigkeit besteht, die beiden Spirochäten beim Zitieren zu unterscheiden, so schlage ich für die weit gewundene Form den Namen *Spirochaeta eurygyrata* n. sp., für die eng gewundene Form den Namen *Spirochaeta stenogyrata* n. sp. vor.

Literatur.

- 1) Le Dantec, Précis de pathologie exotique. Paris 1905.
- 2) — —, Dysenterie spirillaire. (C. R. d. soc. de Biol. T. 55. No. 16.)
- 3) Mühlens, Vergleichende Spirochätenstudien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1907.)
- 4) Mühlens und Hartmann, Ueber Bac. fusiformis und *Spirochaeta dentium*. (Zeitschrift f. Hyg. u. Inf. 1906.)
- 5) Schaudinn, Zur Kenntnis der Spir. pallida. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 42.)
- 6) Hoffmann und v. Prowazek, Untersuchungen über Balanitis- und Mundspirochäten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 41. 1906.)

Verzeichnis der Abbildungen.

- Fig. 1. Beide Spirochätenarten nebeneinander. Vergr. 1200. Loefflersche Geißelfärbung.
- Fig. 2. Beide Spirochätenarten nebeneinander. Vergr. 1200. Giemsa-Färbung.
- Fig. 3. Weitgewundene Spirochäte. Längsteilungsform. Vergr. 1200. Giemsa-Färbung.
- Fig. 4. Enggewundene Darmspirochäte. Vergr. 1200. Loefflersche Geißelfärbung.
- Fig. 5. Teilungsform der enggewundenen Darmspirochäte. Vergr. 1200. Loefflersche Geißelfärbung.
- Fig. 6. Geknöpfte Form der enggewundenen Spirochäte. Vergr. 1000. Giemsa-Färbung.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen von *Pulex cheopis* auf Schifferatten und Schiffsmäusen.

[Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar. Abteilungsvorsteher: Dr. Kister).]

Von Oberarzt Dr. W. Fromme, kommandiert zum Institut.

Mit 1 Tafel.

Die Rolle der Flöhe bei der Uebertragung der Pest war schon lange Gegenstand besonderen Interesses. Laboratoriumsversuche verliefen derart, daß man dem Floh als Pestbacillenüberträger nur eine geringe Bedeutung beilegen zu können glaubte [Deutsche Pestkommission¹⁾, Kolle²⁾,

1) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1899. u. Deutsch. med. Wochenschr. 1897.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. p. 397.

Nuttall¹⁾, Tidswell²⁾, Kister und Schumacher³⁾]. Neuerdings in Indien gemachte Erfahrungen führten zu anderen Ergebnissen. Wie aus den Berichten über die indischen Pestforschungen (Journ. of Hyg. Vol. 4. p. 537 ff. und Vol. 7. p. 323 ff.) hervorgeht, ist festgestellt, daß Flöhe von pestinfizierten Ratten Pestbakterien in sich aufnehmen und auf gesunde Ratten übertragen. Ein Floh kann von einer pestinfizierten Ratte mit einem Male etwa 5000 Pestbacillen einsaugen. Es ist nachgewiesen, daß sich die Bacillen im Flohmagen vermehren, und daß sie bis zu 20 Tagen darin lebend bleiben. Rectuminhalt und Faeces von Flöhen, die von pestinfizierten Ratten genommen waren, enthielten oft zahlreiche virulente Pestbacillen. Aus weiteren Untersuchungen ergab sich, daß bei der Desinfektion von Räumen die gebräuchlichen Desinfektionsmittel nicht ausreichten, die Flöhe zu vernichten. Meer-schweinchen, in desinfizierten Räumen ausgesetzt, erwiesen sich als Flohfänger und wurden mit Pest infiziert.

Als wichtigster Ueberträger der Pestbacillen kommt eine besondere Flohart, der *Pulex cheopis* in Betracht, 1903 zuerst von Rothschild beschrieben, der ihn auf verschiedenen Wirten fand. Der *Cheops* gehört in die von Taschenberg im Jahre 1880 mit *Pulex pallidus* bezeichnete Gruppe. Er ist dann an verschiedenen Orten mit wechselnden Namen belegt worden. So fanden Tidswell 1903 in Sidney und Brisbane auf Ratten eine Art *P. pallidus*, Tiraboschi in Genua eine Art, *P. murinus*, Gauthier und Reybaud 1903 in Marseille auf Schiffsratten Flöhe, die von Rothschild als *Pulex cheopis* identifiziert wurden. Der von Herzog 1904 und 1905 in Manila gefundene *Pulex philippinensis* ist ebenfalls identisch mit *Cheops*. Ebenso kommt diese Flohart in Südamerika und in Indien häufig vor. In Aegypten hat Herr Professor Dunbar (Frühjahr 1909) auf Ratten ausschließlich *Cheops* gefunden. Nach Ansicht von Rothschild (Journ. of Hyg. 1906. p. 485) ist der *Pulex cheopis* der Floh, der allgemein verbreitet und am häufigsten auf Ratten gefunden wird, soweit wenigstens die wärmeren Gegenden in Frage kommen.

Andere Floharten sind bezüglich der Pestübertragung nicht gleichgültig — so sind Infektionen mit Pest durch *Pulex irritans* und *Ceratophyllus fasciatus* experimentell bewiesen —, treten aber an praktischer Bedeutung gegenüber *Pulex cheopis* zurück.

Beschränkt sich das Vorkommen des *Pulex cheopis* im wesentlichen auf die wärmeren Gegenden, so ist doch bei regem Schiffsverkehr seine Verschleppung in kühlere Gegenden anzunehmen.

In Hamburg wurde der Flohfrage von Anfang an ein großes Interesse entgegengebracht, da bei dem lebhaften Verkehr mit Ländern, in denen die Pest endemisch herrscht, häufig genug an Bord der Schiffe pestverseuchte Ratten gefunden werden.

Um ein Urteil über die Arten der hierorts auf Ratten vorkommenden Floharten zu erhalten, wurde in größerem Umfange in systematischer Weise auf Rattenflöhe gefahndet. Das Einsammeln der Flöhe erfolgte in der Weise, daß mittelst Pinzetten, deren Branchen vorn je nach Bedarf mit Watte armiert wurden, das Fell der Ratten abgesucht wurde. Auch das von amerikanischer⁴⁾ Seite empfohlene Verfahren, die toten

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 22. p. 87; Journ. of Trop. Med. 1902. p. 65.

2) Brit. med. Journ. 1903.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. p. 126.

4) Public Health Reports. No. 39. 1908.

Ratten in Wasser zu tauchen und die sich an der oben aus dem Wasser vorragenden Schnauze ansammelnden Flöhe zu fangen, wurde ausgeführt. Weiter wurden nach beendeter üblicher Ausgasung des Schiffes Meer-schweinchen in den verschiedenen Schiffsräumen ausgesetzt, um die die toten Ratten verlassenden Flöhe anzulocken. Später kamen auch Meer-schweinchen auf Schiffen zur Anwendung, die wohl aus pestverseuchten Gegenden stammten, aber nicht als pestverseucht befunden waren.

Von besonderem Interesse mußte es sein, des *Pulex cheopis* habhaft zu werden. Soweit in der Literatur mitgeteilt, kommt diese Flohart in unseren Breiten selten vor. Es wird berichtet, daß Giles 1905 in Plymouth auf Schiffsratten ein einziges Exemplar gefunden hatte.

Ich beschränke mich darauf, die wesentlichen Merkmale hervorzuheben, die die Erkennung des Cheops ermöglichen und verweise hierbei auf die beigelegten Photogramme und die zugehörigen Erklärungen. Eine genauere anatomische Beschreibung des *Pulex cheopis* findet sich im Journ. of Hyg. Vol. 7. p. 450. Als Floharten, die auf Ratten gefunden wurden, kommen außer dem *Pulex cheopis* in Betracht:

- 1) *Pulex irritans*, der Menschenfloh,
- 2) *Ceratophyllus fasciatus*, der gemeine Rattenfloh,
- 3) *Pulex felis*, der Katzen- und Hundefloh,
- 4) *Ctenopsylla musculi*, gewöhnlich auf Mäusen und Ratten gefunden,
- 5) *Sarcopsylla gallinacea*, auf Vögeln vorkommend.

Ein in die Augen fallendes Unterscheidungsmerkmal ist der am vorderen Brust-segment befindliche Borstenkamm. Ihn besitzen *Ceratophyllus fasciatus*, *P. felis* und *Ctenopsylla musculi*. Die beiden zuletzt genannten Floharten weisen außerdem noch eine periorale Borstenreihe auf und sind untereinander wieder dadurch zu unterscheiden, daß *Ctenopsylla musculi* abgesehen von der steileren spitzwinkligeren Form des Kopfes und den kleinen Augen, eine kurze periorale Borstenreihe zeigt, während bei *P. felis* entsprechend der Kopfform die kräftigen Mundborsten in größerer Ausdehnung angeordnet sind. Von den drei übrig bleibenden borstenkammfreien Floharten scheidet *Sarcopsylla gallinacea* leicht aus durch seine breite, winklige Kopfform. Es bleibt also schließlich übrig, die Differentialdiagnose zwischen *Pulex cheopis* und *P. irritans* zu stellen. *P. cheopis* ist im ganzen kleiner und meist blässer gefärbt als *P. irritans*, weshalb ihm auch wohl die Bezeichnung *P. pallidus* zugelegt ist. Wesentlich ist dann aber die Zahl und die Anordnung der am Kopfe befindlichen Borsten. *P. irritans* zeigt eine Borste im hinteren unteren Winkel des Kopfteils, während bei *P. cheopis* der an den Brustteil grenzende Rand des Kopfteils jederseits mit einer Reihe von 4–5 Borsten besetzt ist. Weiterhin sind 2 Borsten bemerkenswert, deren Ursprungsstellen in einer Linie liegen, die zum vorderen oberen Teil des Kopfes geht und mit der erwähnten Borstenreihe einen Winkel bis 90° bilden. Leicht zu erkennen ist sodann die Lage der Augenborste, die vor dem Auge ansetzt und zwar bei *P. cheopis* in Höhe des oberen Augenrandes, und bei der Besichtigung infolgedessen meist über dem Auge nach hinten unten verläuft, während sie bei *P. irritans* meist in der Nähe des unteren Randes ihren Ursprung nimmt. Beiden Arten gemeinsam ist die Lage der Mundborste.

Der *P. cheopis* hat im Gegensatz zu *P. irritans* eine längere sogenannte Antipygidialborste, jene auf dem 7. Abdominalsegment an der Rückenseite entspringende stachelartige Borste. Beim Weibchen läßt sich ferner das Größenverhältnis dieser Borste zu der sogen. Pyramidalborste differentialdiagnostisch verwerten, indem die letztere bei *P. cheopis* stets kleiner, dagegen bei *Irritans* gleich lang oder größer als die Antipygidialborste ist. Ein Unterschied besteht sodann in der Form und Größe der Krallen, die bei *P. cheopis* schmaler und kleiner sind als bei *P. irritans*.

Weitere Unterscheidungsmerkmale beziehen sich z. B. auf die Abdominalsegmente, auf die Anordnung der Beinborsten, auf die Größenverhältnisse der Beinsegmente, der Kieferarten.

Das ausgewachsene Flohmännchen ist gewöhnlich kleiner als das ausgewachsene Weibchen. Der Leib des Weibchens hat mehr eine ovale Form, während das Männchen dadurch, daß die Rückenlinie im Vergleich zur Bauchlinie wesentlich kürzer ist und gradliniger verläuft, eine deutlich andere Bauchform zeigt. Häufig lassen sich beim Weibchen die ovalen Eier und das dunkel erscheinende schlauchförmige Gebilde des

Datum der Einlieferung	Schiffs- name	Herkunft der Ladung	Art der Ladung	Eingelieferte Ratten				
				Gesamt- zahl	M. decum.	M. rattus	M. alex.	Unbest.
22. I.—27. II. 09	T.	Rosario	Kleie, Leinsaat, Woll- ballen, Häute	64 ¹⁾		8	28	28
25.—27. II. 09	M.	La Plata, Rosario	Wollballen, Leinsaat, Kleie in Säcken	46		30	5	11
26.—27. II. 09	Cl. M.	Madras	Juteballen, Wollballen, Erz, Copra, Oelkuchen	18		12	6	
1. III. 09	Cl.	Bombay	Baumwolle, Leinsaat, Knochenmehl	42		20	22	
4.—5. III. 09	A.	Rosario	Leinsaat	78 Mäuse				
5.—6. III. 09	R.	Smyrna	Frucht, Sack- und Stückgut	5		5		
8.—11. III. 09	H.	Buenos Aires	Kleie, Leinsaat, Hafer	122		68	37	17
1. I.—28. III. 09			Schiffe ohne Flohbefund: 44	297 Ratten 78 Mäuse		143	98	56
				431 Ratten u. 3 Mäuse	16	276	112	27
Zusammen				728 Ratten 81 Mäuse	16	419	210	83

Eierstockes erkennen, während beim Männchen dem sternalen Leibesrande parallel laufende und sich nach vorn oben einwindende schlauchähnliche Gebilde zeigen, die als männliche Geschlechtsorgane zu deuten sind.

Im Jahre 1908 war bei den Nachforschungen die Ausbeute an Flöhen sehr gering. Der erste Cheops wurde auf einer eingelieferten Ratte am 11. März 1908, der zweite mit Hilfe eines Meerschweinchens am 13. Juli 1908 gefangen. Der dritte Cheops fand sich auf einer eingelieferten Ratte am 31. Dez. 1908. Auch an anderen Floharten wurden im Jahre 1908 nur wenige Exemplare gefangen.

Ueber die bis zum 28. März reichenden Flohbefunde des Jahres 1909 gibt die beifolgende Tabelle Aufschluß.

In diesem Vierteljahre sind im ganzen auf 728 Ratten und 81 Mäusen 212 Flöhe gefunden worden, die sich auf 51 Schiffe verteilen. Auf 51 dieser 728 Ratten fanden sich Flöhe, d. h. in 7 Proz. Zieht man nur die Ratten in Betracht, so würde auf 3—4 (3,4) Ratten ein Floh kommen. In der Tabelle sind die 7 Schiffe, auf denen Flöhe gefangen wurden, genauer angegeben. Diese Schiffe brachten Ladung vom La Plata, sowie aus Indien und Kleinasien. Naturgemäß war die Ausbeute an Flöhen auf den rattenreicheren Schiffen größer als auf den Schiffen mit wenigen Ratten. Auf ein flohpositives Schiff kommen durchschnittlich 42,4, auf ein flohnegatives durchschnittlich 9,8 Ratten. Von den 7 flohpositiven

1) Davon 6 als pestverseucht festgestellt.

Ratten mit Flöhen				Zahl der gefundenen Flöhe			Anzahl der auf einer Ratte gefundenen Flöhe	Cheops					Cerato-phyllus Zusam.	Cteno-paylla Zusam.	Unbestimmbar			
Anzahl	M. decum.	M. rattus	M. alex.	Unbest.	Zusam.	lebend		tot	Zusam.	lebend	tot	♀				♂	Geschlecht unbest.	
18		1	7	10	62		62	2, 11, 8, 11, 10, 4, 1, 1, 1, 2, 1, 1, 1, 8	51		51	35	16		11			
13		9	2	2	124	19	105	8, 1, 3, 2, 1, 21, 1, 5, 19, 40, 1, 4, 2	124	19	105	80	31	13				
4					4	5	1	4	1, 1, 1, 2	5	1	4	4	1				
12					12	15	2	13	je 1 auf 13 Ratten 2 auf 1 R.	15	2	13	9	3	3			
2 Mäuse						2		2	1, 1	1		1		1			1	
1					1	1			1							1		
3					3	3	1	2	1, 1, 1	3	1	2	2		1			
51 Ratten 2 Mäuse		10	9	32	212	23	188	Durchschn. ca. 4 Flöhe auf 1 Ratte	199	23	176	130	52	17		11	1	1
51 Ratten 2 Mäuse		10	9	32	212	23	188		199	23	176	130	52	17		11	1	1

Schiffen hatte eins pestverseuchte Ratten an Bord. Auf den 64 von diesem Schiffe eingelieferten Ratten wurden im ganzen 62 Flöhe gefunden, kein Floh jedoch auf einer der 6 pestverseuchten Ratten. Aus der Art der Ladung lassen sich auf die Häufigkeit der Flöhe keine Schlüsse ziehen.

Auf den 7 flohpositiven Schiffen wurden von 212 Flöhen 199 Cheopes, 11 Ceratophylli fasciati, 1 Ctenopsylla musculi und 1 wegen Vertrocknung unbestimmbarer Floh gefunden. Die Cheopes stammten vom La Plata, aus Madras und aus Bombay. Die Rattenarten dieser Flohschiffe verteilen sich auf *Mus rattus* und *Mus alexandrinus*. Soweit beobachtet, konnte eine Bevorzugung einer Rattenart vonseiten der Flöhe nicht festgestellt werden. Von den 297 Ratten erwiesen sich 51 als Flohratten, d. i. 17,2 Proz.

Die Zahl der auf einer Ratte vorgefundenen Flöhe schwankte zwischen 1 und 40. Durchschnittlich fanden sich auf den Ratten der Flohschiffe etwa 4 Flöhe auf einer Ratte.

Zumeist waren die Flöhe tot. Es gelang aber von den 199 gefundenen Cheopsflöhen 23 wieder soweit herzustellen, daß sie, auf weiße Mäuse gesetzt, lange Zeit — bis zu 43 Tagen — lebend erhalten und zu Versuchen benutzt werden konnten.

Die Geschlechter verteilen sich derart, daß auf 130 weibliche 52 männliche Cheopes kommen. 17 Cheopsexemplare konnten wegen Läsion

und aus äußeren Gründen hinsichtlich des Geschlechtscharakters nicht bestimmt werden.

Die Zahl der Mäuse tritt in der Regel sehr zurück gegenüber der Zahl der eingelieferten Ratten. Im ersten Vierteljahr 1909 war die Mäusezahl besonders hoch. Im ganzen wurden 81 Stück eingeliefert. Auf einem Schiff fanden sich unter 78 Mäusen 2 mit je 1 Floh. Der eine Floh war wegen Eintrocknung nicht zu identifizieren, der andere stellte sich als männlicher *P. cheopis* heraus. Dieser Befund ist nicht ohne Interesse, weil sich auf dem Schiffe Mäuse als alleinige Nagetiere vorfinden.

Die bisherigen Untersuchungen ergeben folgendes:

In der Zeit vom 1. Jan. bis 28. März 1909 sind von untersuchten 728 Schiffsratten und 81 Schiffsmäusen auf 51 Ratten und 2 Mäusen 212 Flöhe gefunden worden, von denen sich 199 als *Cheopes* erwiesen. Es werden also lebende *Cheops*flöhe in den Hamburger Hafen eingeschleppt.

Nachdruck verboten.

Die Larve von *Pomphorhynchus laevis* Zoega (= *Echinorhynchus proteus* Westr.) in der *Tinca vulgaris* und dessen experimentell erzielte Entwicklung in *Esox lucius*.

[Aus dem Laboratorium für pathol. Anatomie der Kgl. Universität Pavia
(Direktor: Prof. Dr. A. Monti).]

Von **Joseph Karl Riquier**, cand. med.

Mit 3 Figuren.

Bei der *Tinca vulgaris* habe ich in der Leber eingekapselte bzw. um den Darm gelagerte und auch im Peritoneum sitzende Larvengebilde von *Echinorhynchus* wahrnehmen können, ganz ähnlich den von Linstow bei *Phoxinus laevis*, von Hamann bei *Cobitis barbatula*, *Cottus gobio*, *Gobius fluviatilis*, *Gasterosteus aculeatus* und *pungitius*, sowie von Stossich bei *Acipenser sturio* beschrieben.

Diese Larven zeigen einen Leib, einen Hals, eine Beule und einen Rüssel.

Leib ellipsoidal gestaltet, lichtgelb, mit Quersfurchen, 560 μ bis 3,2 mm lang.

Hals unbewaffnet, walzenförmig, 192 μ bis 1,5 mm lang; im oberen Teil desselben eine als Beule bezeichnete Verdickung.

Beule mehr oder weniger differenziert, stets vorhanden.

Rüssel zylindrisch-keulenförmig gestaltet, 192 bis 665 μ lang, mit 8—13 quer verlaufenden Reihen von Haken versehen; letztere sind im Vorderteil des Organs (6—11 Reihen) groß und gekrümmt, im Hinterteil hingegen klein und schwächer gebogen.



Fig. 1. $\times 21$.

Figurenerklärung zur Tafel Fromme.

- Fig. 1. *P. cheopis* ♂.
- Fig. 2. *P. cheopis* ♀.
- Fig. 3. *P. cheopis*, Kopf, Borstenstellung.
- Fig. 4. *P. irritans*, Kopf, Borstenstellung.
- Fig. 5. *P. irritans* ♂.
- Fig. 6. *Ceratophyllus fasciatus*, Borstenkamm.



1



2



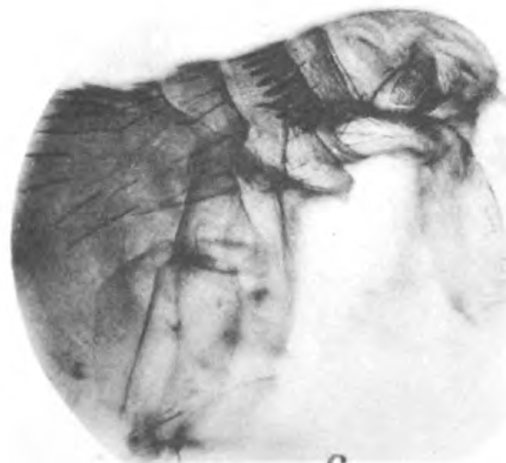
3



4



5



6

Derartige, der *Tinca vulgaris* vom Tessin entnommene Larven sind in allen Jahreszeiten, bei Individuen verschiedenen Geschlechtes und Alters, namentlich bei jugendlichen anzutreffen, bei denen sie recht zahlreich (10–25 Larven) vorhanden und verhältnismäßig groß sind; spärlicher (2–5) und minder groß sind sie dagegen bei erwachsenen Individuen. Ihre Zahl scheint mit den Jahreszeiten keine Aenderung zu erfahren.

Stets ist eine sie umhüllende, auf Unkosten des von ihnen eingenommenen Gewebes gebildete Bindegewebskapsel vorhanden. Es sei mir hier gestattet, darauf hinzuweisen, daß ich bei Schleien von bedeutender Größe besondere, von Hamann als das Anfangsstadium der Entwicklung gedeutete Formen dieser Larven vorgefunden habe, die ich eher als in Entartung begriffene Formen betrachten möchte.

Wie aus der Figur zu ersehen ist, zeigen sich die Parasiten in der Gestalt von runzeligen, keinerlei Oeffnung aufweisenden, gelblich gefärbten, stets in oben erwähnte — hier eine bedeutende Dicke erreichende — Bindegewebskapsel eingehüllten Kügelchen, deren Größe nur sehr selten über 1 mm beträgt.

In dieser Kapsel sitzt das Tier — nachdem es Hals und Rüssel eingezogen — in der Richtung seines großen Durchmessers zu dem oben beschriebenen Kügelchen zusammengeschrumpft. Gerade das Vorhandensein solcher Kügelchen ist es, das mich zu der wohl gerechtfertigten Annahme veranlaßt, daß der Parasit in die Unmöglichkeit versetzt als Larve fortzuleben, degeneriert und schließlich zugrunde geht, sei es, weil er in der Bindegewebskapsel die zu seiner Entwicklung erforderlichen Bedingungen nicht findet, sei es, weil er in seinem Träger länger als normal — d. i. länger als dies mit seiner Lebensdauer verträglich ist — verweilt.

Daraus erklärt sich meinem Dafürhalten nach, daß diese Formen in geringerer Anzahl bei den erwachsenen Schleien anzutreffen sind, als bei den jugendlichen.

Den ersten Schritt auf dem Wege des Zerfalls stellt das Zurückziehen von Hals und Rüssel in die Körperhöhle dar; später schrumpft der Leib zu einer granulösen Masse zusammen, die schließlich schwindet. Zuletzt ist es mir durch sorgfältige Untersuchungen möglich gewesen, die Bindegewebskapsel auch leer zu finden.

Im Gegensatz zu den von Hamann bei den oben erwähnten Fischen gemachten Erfahrungen, ist es mir nach eingehender zweijähriger Untersuchung nicht gelungen, auch nur eine einzige Form von erwachsenem *Echinorhynchus* im Darm der Schleie je anzutreffen, was mich zu der Vermutung veranlaßt, daß letztere die Entwicklung der Larven in ihrer Bauchhöhle begünstigt, dagegen aber einen zur Entwicklung der erwachsenen *Echinorhynchen* wenig geeigneten Aufenthalt darbietet.

Besagte Larve entspricht in bezug auf Gestalt und Größe der von Hamann, Linstow, Stossich beschriebenen; ich hätte dieselbe fast mit Sicherheit als eine larvale Form, wie erstere ansprechen können. Da mir aber keiner der Fische, bei denen obige Autoren sie vorher angetroffen, zur Verfügung stand und es daher nicht möglich war, einen



Fig. 2. $\times 35$.

Vergleich anzustellen, so beschloß ich, die Frage dadurch endgültig zu lösen, daß ich denselben von Hamann im gleichen Falle an Forellen so glänzend durchgeführten Versuch wiederholte. Es handelte sich darum, in den Darm eines fleischfressenden Fisches die von Schleien isolierten Larven einzuführen und deren Entwicklung beim neuen Träger zu verfolgen, um sodann — nachdem das erwachsene Individuum erzielt worden — dessen Larve mit Sicherheit klassifizieren zu können.

Im Dezember bezw. Januar v. J. entnahm ich einer Anzahl Schleien die Larven und ließ dieselben von einigen Hechten verspeisen, da es mir erstens einmal durchaus unmöglich gewesen, Forellen zu bekommen, und zweitens, weil mir — sowohl aus eigener Erfahrung als auch auf Grund von Zschokkes Angabe — bekannt war, daß erwähnte Fische zu jener Zeit keine erwachsenen Pomphorhynchi in ihrer Bauchhöhle beherbergen.

Nach mancherlei mißlungenen Versuchen ward es mir doch endlich möglich — indem ich die Hechte in verschiedenen Zeitabständen nach der Einführung der Larven opferte — festzustellen, daß die beim neuen Träger künstlich eingeführten larvalen Formen zu ihrer vollkommenen Ausbildung gelangen.

Die genauen, detaillierten Versuchsergebnisse werden binnen kurzem in den „Atti della Società ligustica di scienze naturali e geografiche“ erscheinen.

Ich beschränke mich hier lediglich auf die Beschreibung der im Darm des Hechtes zur Geschlechtsreife gelangten larvalen Formen und verweise für nähere Aufschlüsse auf meine Arbeit.

Bei einem Hechte, bei dem ich 65 Tage vorher die Einführung der Larven per os vorgenommen hatte, traf ich 4 geschlechtsreife Formen von *Pomphorhynchus laevis* an; dieselben entsprachen im Durchschnitt nachstehender Beschreibung:

Rüssel zylindrisch-keulenförmig, mit 8—10 Reihen zweierlei Typen aufweisender Haken bewaffnet; die ersten 7—8 Reihen bestehen aus großen, gekrümmten, die übrigen (1—2) aus kleineren, schwächer gebogenen Haken, Länge des Organs 615 μ .

Beule unbewaffnet, kugelförmig.

Hals unbewaffnet, walzenförmig, mit sich ausbreitender Basis, 3 mm lang.

Leib unbewaffnet, dunkel-orangefarbig, von zahlreichen Furchen durchzogen, 9,2 mm lang. Wird der Leib angestochen, so sieht man eine ölartige, aus reifen und unreifen Eiern sowie aus recht zahlreichen stark orange gefärbten Fetttröpfchen bestehende Flüssigkeit spontan heraustreten.

Gesamtlänge = 13,115 mm.

Nach 96 Tagen fand ich bei 2 Hechten



Fig. 3. $\times 10$.

geschlechtsreife Formen, ähnlich den vorhergehenden, nur weit größer geworden.

Rüssel zylindrisch-kugelförmig, wie bei den früheren bewaffnet; 700 μ lang.

Beule unbewaffnet, kugelförmig; Durchmesser von vorn nach hinten 1,2 mm; lateraler Durchmesser 1,6 mm.

Hals unbewaffnet, walzenförmig, breit, 3,8 mm lang.

Leib wie vorher, nur dicker, aufgetrieben, zugespitzt, 19 mm lang. Gesamtlänge = 23,500 mm.

Man wird nun leicht begreiflich finden, daß ich mit Rücksicht auf diese von mir erhaltenen Formen es für gerechtfertigt halte, die untersuchte Larve zu der Art *Pomphorhynchus* (Monticelli) zu zählen.

Die erfolgreichen Ergebnisse des vorliegenden Versuches gestatten auch noch manche Betrachtungen über die Entwicklung des *Pomphorhynchus* anzustellen.

Condorelli gibt an, daß die Größe des *Pomph. laevis* beim *Gobius avernensis* in den verschiedenen Monaten des Jahres zwischen 3 und 9 mm schwankt und daß die minimalen Maße dem Monat Januar, die maximalen aber dem August entsprechen.

Zschokke hat bei anderen Fischen die Wahrnehmung gemacht, daß *Pomph. laevis* das Maximum seiner Entwicklung 2 Monate früher, d. i. im Juni erreicht.

Ich habe aus den Larven geschlechtsreife, 13,115 mm lange Formen nach einem Aufenthalt von nur 65 Tagen im beherbergenden Tiere, und nach 96 Tagen solche bekommen können, die an Größe den von Zschokke und von Condorelli beschriebenen gleichkommen bzw. dieselbe übertreffen.

An dieser Stelle möchte ich bemerken, daß es mir unbegreiflich erscheint, wie bei den von Zschokke untersuchten Hechten die *Pomphorhynchi* nicht weniger als zweimal soviel Zeit zu ihrer Entwicklung erfordert haben. Um mich aber mit Condorelli in Einklang zu setzen, muß ich annehmen, daß bei den Hechten nach Verlauf von weiteren 5 Monaten die *Pomphorhynchi* eine bedeutendere Größe erreicht haben als die jetzige. Oder aber — will man annehmen, daß die Körpergröße von da ab unverändert bleibt — ist die Vermutung wohl zulässig, daß die von Condorelli und von Zschokke für im August und Juni maximal gehaltenen Formen, bereits etliche Monate früher, als solche vorhanden gewesen.

Immerhin aber ergibt obige Untersuchung ziemlich deutlich, daß die Entwicklung der Parasiten je nach dem Träger variieren kann: im vorliegenden Falle ist es wohl möglich, daß bei der großen Menge des den Hechten zur Verfügung stehenden Nahrungsmaterials diese so gefräßigen Fische einen für die Entwicklung des *Pomphorhynchus laevis* ausgezeichneten Boden geliefert haben.

Schlußfolgerungen.

1) *Pomphorhynchus* hat neben *Phoxinus laevis*, *Cobitis barbatula*, *Cottus gobio*, *Gobius fluviatilis*, *Gasterosteus aculeatus*, *Asturiocipenser* auch noch die *Tinca vulgaris* Träger.

2) Bei dem in der Gefangenschaft lebenden Hechte erreicht *Pomphorhynchus laevis* in 65 Tagen seine Geschlechtsreife und gelangt in

ungefähr 3 Monaten zu seiner wahrscheinlich maximalen Größe, was mit der von Zschokke und von Condorelli gemachten Wahrnehmung nicht übereinstimmt.

Pavia, im Mai 1909.

Literatur.

- Condorelli, M., Ricerche sui vermi parassiti del Gobius avernensis. (Boll. Soc. Rom. Stud. Zool. VII. 1898),
 Hamann, O., Die Nemathelminthen-Beiträge zur etc. Heft 1. Jena (Gustav Fischer) 1891.
 —, Die Nemathelminthen. Heft 2. Jena (H. Costenoble) 1895.
 —, Monographie der Acanthocephalen. (Jen. Zeitschr. Naturw. Bd. 25. Teil 1 u. 2.
 Linstow, O., Compendium der Helminthologie. Hannover 1878.
 —, Dasselbe 1878—1889.
 Parona, C., L'elmintologia italiana dai suoi primi tempi all' anno. 1890. (Atti R. Università di Genova. Vol. 13.)
 Porta, A., Gli Echinorinchi dei Pesci. Archivio. Zoologico. Vol. II. Fasc. 2. II. 1905.
 Contributo allo studio degli Acanthocephali dei Pesci. (Biologica. Vol. I. 1907. 19.)
 Riquier, G. C., L'echinorhynchus proteus Westr. parassita della Tinca vulgaris (Atti Soc. Ligustica Scien. Natur. e Geogr. Vol. 19. 1908.)
 —, Lo sviluppo del Pomphorhynchus laevis Zoega ottenuto sperimentalmente nel luccio (Atti. Soc. Lig. Soc. Nat. e Geogr. Vol. XX. 1909.)
 Zschokke, F., Recherches sur l'organisation et la distribution zoologique des vers parasites des poissons d'eau douce. (Archives de Biol. de Van Beneden. T. 5. 1884.)

Nachdruck verboten.

Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die Mikroorganismen und der Mikroorganismen auf die Enzyme.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Sassari.]

Von Prof. C. Fermi.

In meiner Arbeit ¹⁾, die ich im Jahre 1890 veröffentlichte, schrieb ich:

„Da, wie ich mich durch zahlreiche Versuche überzeugt habe, Pepsin, Trypsin und Pilzfermente das Gedeihen der Mikroorganismen nicht beeinträchtigen, Pepsin und Trypsin nicht auf die intakte lebendige Zelle zu wirken vermögen, so können wir annehmen, daß die Pilzfermente auch keinen (nachteiligen) Einfluß auf gesundes lebendes Gewebe haben.

Im Gegenteil, indem die Pilze diese Fermente als Ernährungsmaterial benutzen, zerstören sie dieselben.“

Und in einer anderen Arbeit ²⁾, die 1895 erschien, teilte ich folgendes mit:

„1) Pepsin, in Salzsäure gelöst, wie auch der aus Fisteln erhaltene Magensaft, üben auf Hypho- wie auf Blastomyceten gar keine Wirkung aus. Im Gegenteil, diese Mikroorganismen entwickeln sich in den oben genannten Verdauungsflüssigkeiten, indem sie deren Reaktion und Aktivität verändern.

2) Trypsin ist nicht nur Hypho- und Blastomyceten, sondern auch Schizomyceten gegenüber inaktiv, welche letztere in Gegenwart des Enzyms und vielleicht auch auf dessen Kosten sich sehr üppig entwickeln.

1) Fermi, C., Die Leim und Fibrin lösenden und die diastatischen Fermente der Mikroorganismen. (Archiv f. Hyg. Bd. 10. 1889. Heft 1.)

2) Fermi, C., Die Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die lebendige Zelle. (Centralbl. f. Physiol. Bd. 8. 1895. p. 21.)

3) Das proteolytische Enzym eines Mikroorganismus verdaut weder sich selbst, noch Bakterien anderer Art.

4) Auch die abgestorbene Zelle weist einen nicht geringen Widerstand der zersetzenden Wirkung der Enzyme auf, welche letztere viel eher auf Intercellularsubstanz, als auf die Zellen selbst wirken, indem sie auf diese Weise ein Mittel bieten, die verschiedenen histologischen Elemente voneinander zu trennen.“

Diese Frage bedurfte begreiflicherweise eines weiteren eingehenden Studiums. Selbst wenn wir annehmen, daß die Mikroorganismen durch die proteolytischen Enzyme nicht schnell verdaut würden, wie dies bezüglich des Fibrins stets der Fall ist, wäre es immerhin möglich, daß diese Enzyme, ohne eine merkliche und eigene bakteriolytische Eigenschaft zu besitzen, dennoch fähig wären, irgendeine, wenn auch sehr langsame Veränderung in morphologischen und biologischen Charakteren der Mikroorganismen hervorzurufen.

Fast nichts weiß man bezüglich der Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die abgestorbenen Mikroorganismen.

Auch die von mir 1889 aufgestellte und kürzlich von Papasotiriou verteidigte Annahme der zerstörenden Wirkung der Mikroorganismen auf die Enzyme bedarf weiterer Bestätigung durch weitere Forschungen. Während in der Tat einerseits verschiedene Erwägungen mich jetzt zur Verneinung dieser Annahme führen würden, scheinen mir doch die Versuche Papasotiriou nicht beweisend, da dieser Verfasser dem Pepsin andere Nährstoffe (Bouillon) beifügte und zu untersuchen vergaß, ob die pepsintötende Wirkung mehr von den Produkten der Mikroorganismen, als von den lebenden Mikroorganismen selbst herrührt.

In der Tat hätten einerseits die Mikroorganismen sich von Bouillon nähren und das Pepsin verschonen können und andererseits könnte das Pepsin, sei es durch Fixierung der proteischen Stoffe, sei es durch Wirkung anderer Stoffe, sei es durch Neutralisierung der Cl inaktiviert werden.

Hätte Papasotiriou reines Pepsin der Wirkung der Mikroorganismen ausgesetzt und die Wirkung seiner Kulturen nur in sterilisierter Bouillon auf das Pepsin versucht, so hätte er vielleicht im ersten Falle wahrgenommen, daß das der Wirkung der lebenden Mikroorganismen ausgesetzte Pepsin aktiv geblieben war, während das der Tätigkeit derselben sterilisierten Kulturen unterworfenen Pepsin zerstört war.

Selbst wenn man ein negatives Resultat erzielt hätte, d. h. daß die proteolytischen Enzyme nicht von irgendeinem Mikroorganismus angegriffen worden wären, so bedurfte es wohl nichtsdestoweniger der Entscheidung, ob dies die Regel oder die Ausnahme sei.

Wer kennt nicht die großen Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Mikroorganismen einer und derselben Substanz gegenüber?

Selbst im Falle eines positiven Resultates wäre vielleicht die Entscheidung nicht zu erbringen, ob die enzymtötende Wirkung allen Mikroorganismen eigen ist, wie dies in der Tat der Fall sein müßte, wenn dies das einzige Verteidigungsmittel der Mikroorganismen und der lebenden Zellen im allgemeinen gegenüber der Verdauungstätigkeit der Enzyme war?

Um alle diese Fragen eingehender zu studieren, stellte ich neue Versuche an, und zwar über:

1) die Wirkung der proteolytischen Enzyme auf lebende Mikroorganismen und ganz besonders a) auf ihre Form, ihren Bau, ihre Mem-

branen, Kapseln, Wimpern, Zoogloen usw., b) die Anordnung (Isolierung der Trauben, Ketten und kubischen Formen und die Agglutination, c) die Entwicklung derselben (Spaltung, Sporulation, Keimung, Sprossung der Sporen etc., d) die Bewegung, e) die Pigmentproduktion, f) die pathogene Wirkung, die Toxinproduktion usw.;

2) die Wirkung der Enzyme auf die toten Mikroorganismen;

3) die Wirkung der lebenden Mikroorganismen auf die proteolytischen Enzyme;

4) ob wirksame und unwirksame Enzyme einen Nährstoff für Bakterien herstellen können;

5) Wirkung der toten Bakterien und der Bakterienprodukte auf die proteolytischen Enzyme;

6) Wirkung der Bakterienprodukte auf Ptyalin und Emulsin.

I. Wirkung des Trypsins, Papains und Pepsins auf die Mikroorganismen-Agarkulturen.

Versuch 24. März 1909. Zu 5 ccm flüssigen Agars (Temper. 40°) fügt man 0,1 g der drei sich im Versuche befindenden sterilisierten und aktiven Enzyms hinzu. Den Pepsin enthaltenden Agarreagenzgläschen wird soviel HCl beigelegt, um eine 3-prom. Lösung zu erhalten.

Mittels sterilisierter Pipette wird dann der Agar in drei Petri-Schalen verteilt, und zwar so, daß er kleine, aus zwei Agartropfen bestehende Inselchen bildet, die parallel in Reihen angeordnet sind, in einer Entfernung voneinander von ungefähr 2 cm und die den Namen (oder Nummern) der auf einem der äußeren Seite des Bodens der Kapsel aufgeklebten Papierstreifen geschriebenen Mikroorganismen entsprechen. Der Kontrolle halber werden ebenfalls Kapseln mit mittels Erhitzung auf 100° (10 Minuten lang) inaktivierten Enzymen bereitet. Sodann werden die verschiedenen Inselchen mit den verschiedenen im Versuche stehenden Mikroorganismen geimpft, worauf sie in den Brutofen gebracht werden. Auf Cl-Pepsin werden nur solche Keime gebracht, die in jenen Säuren sich entwickeln.

Die nach 5 Tagen gewonnenen Resultate für die einzelnen Mikroorganismen sind auf folgender Tafel angegeben.

	Mikroorganismen	Trypsin	Papain	Pepsin
1	Tetrag. septicus	— (mit Pigment)	++ (mit Pigment)	
2	B. typhi	+	++ (mit Pigment)	
3	" coli	++	++	
4	" chol. gallinarum	—	++	
5	" pyocyaneus	+	++	
6	" prodigiosus	+	++ (mit Pigment)	
7	" rubrum	— (mit Pigment)	—+ (mit Pigment)	
8	" V. cholerae	+	++	
9	" Massanah	+	++	
10	Sacch. albus	+	++	+
11	Oid. lactis	+	++	+
12	" albicans			+
13	Pen. glaucum			++
14	" brevicaula	+	++	+
15	Asper. niger			+
16	" flavescens			—
17	" candidans			++
18	" fumigatus	+	++	++
19	Mucor mucedo	++	++	++

Schlußfolgerungen: Trypsin, Papain und Pepsin waren selbst in der sehr starken Lösung von 20 Proz. nicht imstande: 1) auf Glyzerin-agar die Entwicklung einiger der 19 studierten Schizo-, Blasto- und Hyphomyceten zu verhindern, ja nicht einmal zu verspäten; 2) irgendeine morphologische oder biologische Veränderung in denselben herbeizuführen.

Die pathogene, chromogene Wirkung etc. erlitten keine Veränderung. Mit einem Worte, man fand keinen Unterschied gegenüber der Kontrollprobe, nur war die Entwicklung der Mikroorganismen in Gegenwart des Papains etwas kräftiger, als in Gegenwart des Trypsins.

II. Wirkung des Trypsins auf die Mikroorganismen und der Mikroorganismen auf das Trypsin.

Versuch 1. Mai 1908.

1) Man bereitet folgende Trypsinlösung:

Trypsin Gröbler	0,1 g
Glyzerin	5 "
Neut. Natriumsulfat	1 "
physiologische Lösung	500 ccm

2) Diese Trypsinlösung wird sterilisiert, indem man sie durch eine Porzellankerze filtriert.

3) Mit aller Vorsicht verteilt man unter einer sterilisierten Glaskappe das Filtrat, und zwar 15 ccm auf jedes Reagensglas, und impft die Gläser unter derselben Kappe mit den verschiedenen Mikroorganismen.

4) Zur Kontrolle über die Wirkung des Trypsins auf die Mikroorganismen wird derselbe Versuch mit durch 10 Minuten langer Erhitzung auf 100° inaktiviertem Trypsin wiederholt.

5) Zur Kontrolle bezüglich der Wirkung der Mikroorganismen auf das Trypsin wird der Versuch mit getöteten Mikroorganismen wiederholt, indem man den Reagensgläsern so viel Karbolsäure zufügt, als notwendig ist, um eine 1-proz. Lösung und einen Kulturbelag in Agar eines der fünf zum Experimente benutzten Mikroorganismen¹⁾ zu erzielen. Hierauf werden sämtliche Röhren in einen Brutschrank gebracht.

6) Nach 10, 20, 30, 60 Tagen prüft man einerseits die verschiedenen Mikroorganismen und andererseits die Tätigkeit des Trypsins mittels der gewöhnlichen mit Karbolsäure versetzten Gelatineröhren.

Zu diesem Zwecke gießt man in eines der Gelatineröhrchen 1 ccm eines der Filtrate und 1 ccm 0,5-proz. Karbolsäure.

Der größeren Sicherheit halber wurden von jeder Probe zwei Röhren hergestellt. Hierauf werden die einzelnen Tubetten in eine Temperatur von 20° gebracht und nach 5—10 Tagen wird die Schicht der aufgelösten Gelatine gemessen.

Die erhaltenen Resultate sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt. Der Kürze halber haben wir uns darauf beschränkt, nur die Zahlen wiederzugeben, welche die Verflüssigung der Gelatine nach 10 Tagen betreffen, sowie die Durchschnittszahlen bezüglich der beiden Proberöhrchen.

1) Man fügt diese Mikroorganismenbeläge hinzu, da bekanntlich ein Unterschied besteht in dem Verluste der Aktivität der Enzymlösungen, je nachdem diese eine größere oder geringere Menge Albuminoidstoffe enthalten.

Zeitdauer der Mikroorganismenwirkung	B. coli	B. Friedländer	B. cavi-cida	B. mesentericus	B. pyocyaneus	V. saprophytes	B. syncyaneus mesentericus	Sacch. albus
10 Tage	6,5	5,7	5,7	5,5	6,2	6,5	5,7	6,5
Kontrollversuch			5,7	4	5,2	6		4,5
20 Tage	4,2	4,5	3,7	3,5	4,2	6	3,7	5,5
Kontrollversuch			5,7	4,5	5,2	5,7		3,7
30 Tage	5,2	3,7	5	7,5	7,7	7,8	5	6,5
Kontrollversuch			8,7	7,7	7,5	13		6,5
60 Tage	8,5	11,5	10,7	8,2	12,2	11,7	8,5	8,2
Kontrollversuch			9	9,7	12,2	14,7		7,7

Schlußfolgerung.

1) Selbst nach 2 Monaten verursachte das Trypsin keine erkennbare morphologische oder biologische Veränderung in irgendeinem der untersuchten Mikroorganismen. Sowohl die äußeren als auch die inneren morphologischen Charaktere, wie auch die biologischen, wie z. B. die Entwicklung, die chromogene, die pathogene Wirkung schienen nicht verändert. Keiner der untersuchten Mikroorganismen besaß die Kraft, das Trypsin (resp. die Glutrinase) zu inaktivieren.

Selbst nach 60 Tagen bewahrte das der Wirkung der Mikroorganismen ausgesetzte Trypsin dieselbe Tätigkeit wie das (nicht geimpfte) Kontrolltrypsin, welches unter gleichen Bedingungen behandelt worden war.

2) Es fand sich kein nennenswerter Unterschied in der Tätigkeit des mit dem einen oder dem anderen Mikroorganismus geimpften Trypsins. Eine Wiederholung dieser Versuche gab dieselben Resultate.

3) Folglich wären weder die Mikroorganismen noch deren Produkte imstande, das Trypsin zu zerstören.

3) Das aktive Trypsin würde somit kein Nährmaterial für die Mikroorganismen darstellen.

Die Frage, ob diese Tatsache durch einen besonderen Widerstand der aktiven Enzyms oder durch die chemische Zusammensetzung desselben, die für die Ernährung der Mikroorganismen ungeeignet zu erklären ist, wird der Gegenstand weiterer Forschungen sein.

III. Wirkung des sauren Pepsins auf die Mikroorganismen und umgekehrt.

Versuch 24. Febr. 1908. 1) Man bereitet folgende Pepsinlösung:

Pepsin	1,5 g (= 3-prom.)	HCl	1 g
Glyzerin	1 „	Aqua dest.	500 ccm

2) Dieselbe wird in sterilisierte Reagensröhrchen unter sterilisierter Glaskappe zu je 15 ccm in Probiergläschen verteilt, und diese werden mit den verschiedenen in Untersuchung genommenen Mikroorganismen behandelt.

Zum Kontrollversuch bezüglich der Wirkung des Pepsins auf die Mikroorganismen werden einige Proben mit durch Erhitzung auf 100° während 10 Minuten inaktiviertem Pepsin versetzt.

Zur Kontrolle über die Wirkung der Mikroorganismen auf das Pepsin gießt man in eines dieser Pepsinröhrchen, welche ein Gemisch von *Aspergillus niger* enthalten, so viel Karbolsäure, daß man 0,5 Proz. erreicht.

Hierauf werden sämtliche Probiergläschen in den Brutofen mit einer Temperatur von 30° gebracht.

3) Nach 10—20—30—60 Tagen und nach einem Jahre wird die

Wirkung des Pepsins mittels Fibrin probiert. Zu diesem Zwecke entnimmt man jedem Röhrchen 1—2—3—4—5 Zehntel der Flüssigkeit, verteilt dieselbe in 5 Reagensgläser und verdünnt mit 2-prom. Cl in folgender Weise:

1 Zehntel	+ 4,9	} HCl 2 Prom.
2 "	+ 4,8	
3 "	+ 4,7	
4 "	+ 4,6	
5 "	+ 4,5	

Sodann legt man in ein jedes Probierröhrchen eine Fibrinflocke und bringt sie alle in den Brutofen bei einer Temperatur von 37°. Von Zeit zu Zeit sieht man nach, wann die Verflüssigung des Fibrins auftritt. Die gesammelten Resultate befinden sich in folgender Tabelle:

Dauer der Mikroorganismenwirkung	Sacch. albus	Oidium lactis	Pen. brevicaulis	Asp. niger	Asp. flavus	Mucor mucedo	Kontrollversuche
10 Tagen	+	+	+	+	+	+	+
20 "	+	+	+	+	+	+	+
30 "	+	+	+	+	+	+	+
60 "	+	+	+	+	+	+	+
ein Jahr	+	+	+	+	+	+	+

Die gleichen Versuche werden wiederholt, indem man in der Pepsinlösung das Acid. chloric. durch Ac. lactic. ersetzt, wobei man die gleichen Resultate erzielte.

Ich unterlasse daher die Mitteilung der einzelnen entsprechenden Tabellen, die sich auf diese Versuche beziehen.

Schlußfolgerung: 1) Selbst nach einem Jahre verursachte das saure Pepsin keine Aenderung in den morphologischen und biologischen Charakteren der untersuchten lebenden Mikroorganismen. 2) Keiner der lebend untersuchten Mikroorganismen inaktivierte die Wirkung des Pepsins in saurer Lösung (HCl 2 Prom. Ac. lact. 2 Proz.). Selbst nach 60 Tagen behielt das der Einwirkung der lebenden Mikroorganismen unterworfenen Pepsin dieselbe Aktivität, wie das Kontroll- (nicht eingimpfte) Pepsin, welches unter denselben Bedingungen gehalten worden war. Man bemerkt keinen bemerkenswerten Unterschied in der Aktivität des mit dem einen oder dem anderen Mikroorganismen geimpften Pepsins. 3) Folglich wären weder die Mikroorganismen noch ihre Produkte imstande, das Pepsin zu zerstören. 4) Das aktive Pepsin würde somit kein Nährmaterial für die Mikroorganismen darstellen.

IV. Wirkung des sauren Pepsins und des Trypsins auf tote Mikroorganismen.

Nachdem ich bereits nachgewiesen habe, daß die lebenden Mikroorganismen durch die Enzyme nicht verdaut, ja nicht einmal in ihren morphologischen und biologischen Charakteren verändert werden, schien es mir interessant, zu erforschen, was mit den toten Mikroorganismen geschieht, und stellte diesbezüglich folgende Versuche an:

Versuch 29. März 1909. In Eproutetten, welche 10 ccm einer mit Karbolsäure versetzten Lösung der zu untersuchenden Enzyme (Hydrochlorpepsin 1:1000, Trypsin 1:500 und Papain 1:200) enthalten, werden 3 Oesen einer frischen Agarkultur jedes einzelnen Mikroorganismus gebracht, hierauf werden die Eproutetten mit den zur Kontrolle bestimmten und nur Mikroorganismen in 1-proz. Karbolsäure enthaltenden, in die Temperatur von 37° gebracht.

Nach 5 Tagen werden die einzelnen Mikroorganismen morphologisch untersucht. Die erhaltenen Resultate waren:

1) *Staphyl. pyog. aureus* und *Tetragenus septicus* weisen keinen Unterschied auf, sei es, daß sie den drei Enzymen, oder der Karbolsäure allein ausgesetzt worden waren.

In Papain nur wurden die vier Elemente des *Tetragenus* eigentümlich weit voneinander wahrgenommen.

2) *B. typhi* zeigte sich etwas aufgelöst und im Pepsin agglutiniert, Elemente zum Teil verändert, zum Teil erhalten werden im Trypsin und im Papain beobachtet, vollständig erhalten hingegen in der Karbolsäure.

3) *B. coli* weist rückbildende Formen, wenig gefärbte und zum Teil in Pepsin agglutinierte Elemente auf. Dasselbe bemerkt man ungefähr im Trypsin und Papain, doch ohne Agglutination. In den Kontrollproben in Karbolsäure hingegen waren die Elemente intakt¹⁾.

4) *B. prodigiosus* weist keine Art von Verschiedenheit auf, weder in den Enzymlösungen noch in der Karbolsäure.

5) *B. pyocyaneus* weist sowohl in den Enzymlösungen wie in der Karbolsäure verkleinerte und rundliche Elemente auf.

6) *B. megatherium* zeigt sich im Pepsin wohlerhalten und gut gefärbt, in Pepsin und in Papain hingegen verkleinert und unter zahlreichen agonischen und zerstörten Formen. Im Papain weist er noch weniger sichtbare, geschwollene und mit Vakuolen versehene Formen auf.

7) *V. cholerae* weist im Papain zum Teil zerstörte, zum Teil gut erhaltene und gefärbte Formen auf. Im Trypsin waren die Elemente weniger verändert als im Papain. Intakt und gut gefärbt waren sie in Karbolsäure.

8) *V. massauensis* erwies sich als wenig gefärbt, mit vielen rückbildenden Formen in den drei Enzymen und noch gut erhalten hingegen in der Karbolsäure.

9) *Sacch. albus* erwies sich fast intakt, sowohl im Gegensatz der Enzyme als in Karbolsäure allein. In Papain nur war er größer, mit der Membran in dreifacher Kontur besonders ausgeprägt.

10) Das *Oidium albicans* wies in Pepsin die Markelemente auf, die bloße Membran herabgesetzt und erhalten, hingegen die eiähnlichen Formen, obgleich geschwollen und bis auf zwei oder drei Punkte nur vermindertes Protoplasma auf. In Papain erwies es sich besser erhalten als in Pepsin und in Karbolsäure allein.

11) *Pen. brevicaulis* und *Asp. fumigatus* wiesen ein bis auf eine einfache Membran verdaute auf. Die Sporen waren intakt.

V. Wirkung der lebendigen Mikroorganismen auf das Pepsin in neutraler wässriger Lösung.

Versuch 25. Jan. 1909. 1) Probiergläschen mit 20 ccm. wässriger Pepsinlösung zu 1:2000—4000—8000—10000 werden geimpft, die einen mit *Bac. mesentericus*, andere mit *Bac. fluorescens*, andere mit Schmutzwasser und wieder andere mit dem Darminhalte von Kaninchen, sodann im Thermostaten bei 37° aufbewahrt, und zwar gleichzeitig mit einigen sterilen Kontrollröhrchen mit Toluol.

1) Kantorowicz fand, daß *B. coli* nicht durch Trypsin angegriffen wird, und daß es bei 75° aber aufgelöst würde.

2) Nach 5 und 10 Tagen wird die Aktivität der Pepsinlösungen probiert, indem 5 ccm aus den verschiedenen Probierröhrchen in andere Röhrchen gegossen werden, denen eine Fibrinflocke beigelegt ist, sowie eine genügende Menge einer Lösung HCl 1:10, um eine 2-prom. Lösung zu erhalten.

Folgende Tabelle bringt die Resultate:

Mikroorganismen	1:2000		1:4000		1:8000		1:10 000	
	5 Tage	10 Tage	5 Tage	10 Tage	5 Tage	10 Tage	5 Tage	10 Tage
<i>B. fluorescens</i>	+	++	+	++	+	++	+	0
<i>B. mesentericus</i>	+	+	+	+	0	++	0	0
Darminhalt	+	++	+	0	+	0	+	0
Schmutzwasser	+	++	+	0	0	0	0	0
Kontrollversuche	+	+	+	0	+	0	+	0

Schlußfolgerung: 1) Aus dieser Tabelle geht hervor, daß das Pepsin in wässriger Lösung durch die gewöhnlichen Fäulnis- mikroorganismen nicht einmal nach 5—10 Tagen zerstört wird. Die mit verdünnten Pepsinlösungen, nämlich zu 1:8000, 1:10000 erhaltenen Resultate haben keinen Wert, denn bei diesen Verdünnungen ist die Aktivität des Fermentes unsicher und hat auch im Kontrollversuche negative Resultate ergeben.

VI. Wirkung der lebenden Mikroorganismen auf das Trypsin und das Pepsin (in neutraler Bouillonlösung) und umgekehrt.

Versuch 4. Febr. 1909. Reagensgläser, welche 20 ccm einer Lösung neutraler Pepsinbouillon und andere, welche 20 ccm einer Lösung von Trypsinbouillon zu 1:4000 enthalten, werden mit *B. mesentericus*, *B. fluorescens*, Schmutzwasser und mit Darminhalt von Kaninchen geimpft und mit einigen steril gehaltenen Kontrollgläsern in den Brüt- ofen bei 37° gebracht. Die gewöhnlichen Kontrollproben werden natür- lich nicht vergessen. Nach 12 Stunden, 1—2—3—5 Tagen wird die Aktivität der Pepsin- und Trypsinlösungen untersucht, indem man 5 ccm aus den verschiedenen Gläsern in andere mit einem Zusatz einer Fibrin- flocke gießt. Den Pepsinröhrchen wird so viel HCl zu 1:10 hinzugefügt, daß man eine 2-prom. Lösung erhält. Nachstehende Tabelle bringt die erhaltenen Resultate:

Mikroorganismen	Pepsin 1:4000						Trypsin 1 Prom.					
	12 Stunden		3 Tagen		5 Tagen		12 Stunden		3 Tagen		5 Tagen	
	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe
<i>B. mesentericus</i>	+	0	+	+			+	+	+	+		
<i>B. coli</i>	+	+	+	+			+	+	+	+		
Darminhalt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schmutzwasser	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+
Kontrollversuche	+	+	+	+			+	±	+	+		

Schlußfolgerungen. 1) Wie man sieht, wurde das Pepsin und das Trypsin auch in Bouillon wie in Wasserlösung durch die versuchten Mikroorganismen (weder in Rein- noch in Mischkultur) zerstört. In einem anderen Versuche aber (in Uebereinstimmung mit Papasoti- riu) wurde das Pepsin teilweise unwirksam gemacht.

2) Das Trypsin (die neutrale Pepsinlösung könnte es natürlich nicht) verursachte, wie gewöhnlich, keine erkennbare morphologische oder biologische Veränderung in irgendeinem der untersuchten Mikroorganismen.

VII. Ob wirksame und unwirksame Enzyme einen Nährstoff für die Mikroorganismen herstellen können?

Ein interessantes Thema schien es mir, zu sehen, ob die aktiven Enzyme einen Nährstoff für die Mikroorganismen darstellen können. Zu diesem Zwecke kultivierte ich in nachfolgenden Untersuchungen verschiedene Mikroorganismen in sehr verdünnten (um die den Enzymen beigemischten Nährstoffe soviel als möglich zu vermindern), sterilisierten Lösungen von sowohl aktiven wie durch Wärme inaktivierten proteolytischen Enzymen.

Versuch 24. April 1909. Zunächst werden die drei Enzyme, Pepsin, Trypsin, Papain sterilisiert, indem je 1 g derselben der Wirkung von 30 ccm absoluten Alkohols 24 Stunden ausgesetzt wird. Der Alkohol wird vorsichtig und vollständig entfernt, hierauf bereitet man mit diesen 3 g sterilisierter Enzyme Lösungen 1:1000 in physiologischem Wasser. Sodann werden unter Beobachtung der strengsten Kautelen (mittels sterilisierter Pipette und unter einer kleinen, geeigneten, ebenfalls sterilisierten Glaskappe etc.) je 5 ccm auf eine Prouvette verteilt. Man kocht eine Hälfte der Prouvetten 10 Minuten lang und impft sie in gleicher Minimalmenge mit den verschiedenen Mikroorganismen. Die Kulturen werden in den Brutschrank gesetzt und von Zeit zu Zeit ihre Entwicklung untersucht.

Die nach 5 Tagen erzielten Resultate sind:

1) Sämtliche untersuchten Mikroorganismen entwickeln sich nicht nur auf den inaktiven proteolytischen, sondern auch auf den sehr aktiven Enzymen.

2) Daß man außerdem im gekochten Pepsin bezüglich fast aller Mikroorganismen, wie z. B. *B. coli*, *B. typhi*, *B. prodigiosus*, *V. cholerae*, *V. massauensis* und *Sacch. albus* eine etwas stärkere Entwicklung wahrnahm.

Unbeständige Resultate erzielte man hingegen bezüglich des Trypsins und des Papains.

Der *B. pyocyaneus* weist keinen Unterschied in dieser Beziehung auf. Er entwickelt sich in derselben Weise sowohl auf gekochten wie auf ungekochten Enzymen.

Hieraus könnte man schließen, angesichts der äußerst geringen Menge des Nährstoffes, aus welchem das Substrat besteht (1:1000), daß die Mikroorganismen sich nicht nur den inaktiven, sondern auch den sehr aktiven Enzymen nähern, oder, was das gleiche ist, daß auch die aktiven Enzyme für die Mikroorganismen eine Nährsubstanz bilden. Diese Versuche werden mit verdünnteren Enzymlösungen (1:5—10—20000) wiederholt.

VIII. Wirkung der Mikrobenprodukte auf Pepsin und Trypsin.

Nachdem wir die Wirkung der lebenden Bouillonkulturen auf Pepsin und Trypsin studiert hatten, wollten wir der Wirkung der Bakterienprodukte nachforschen. Außer dem Pepsin versuchte ich auch das Trypsin.

Versuch 27. April 1909. Kolben mit 100 ccm Bouillon werden mit Mischungen von Fäulnismikroorganismen geimpft und in eine Temperatur von 37° gebracht. Nach 3 Tagen setzt man der Bouillon so viel Karbolsäure hinzu, daß sie zu 1 Proz. ausreicht, sodann bringt man in einige Kolben so viel Pepsin, um eine Lösung von 1:4000 zu haben, und in andere Kolben so viel Trypsin, um eine Lösung von 1:1000 zu erzielen. Die Kolben werden in eine Temperatur von 20° gebracht; nach 5 Minuten, 5–10 Stunden und 3 Tagen wird die Aktivität der beiden Enzyme probiert. Zu diesem Zwecke gießt man 5 ccm vom Inhalt der verschiedenen Kolben in 2 Eprouvetten, fügt eine Fibrinflocke hinzu und gießt in die Pepsin enthaltenden so viel HCl, um 2-prom. zu erzielen. Die Resultate finden sich in nachstehender Tabelle:

Pepsin										Trypsin									
nach 5 Min.		nach 3 Std.		nach 5 Std.		nach 10 Std.		nach 3 Tagen		nach 5 Min.		nach 3 Std.		nach 5 Std.		nach 10 Std.		nach 3 Tagen	
1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Resultat: Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Mikrobenprodukte (sterilisierte Bouillonkulturen von Fäulnismikroorganismen) fähig waren, vollständig das Pepsin zu inaktivieren. Auf das Trypsin hingegen übten sie keine Wirkung aus. Ob man in diesem Falle die neutralisierende Wirkung auf das Pepsin den Albuminoiden, den Alkalien oder anderen Stoffen zuschreiben muß, werden wir später sehen.

IX. Wirkung der Mikrobenprodukte auf das Pepsin.

Zu 20 Tage alten reinen Bouillonkulturen von verschiedenen Mikroorganismenarten fügte man so viel Pepsin hinzu, um 1:2000 und so viel Karbolsäure, um 1 Proz. zu erhalten. Nach 5 Minuten, 3–10 Tagen wird die Wirkung des Pepsins auf Fibrin probiert. Zu 5 ccm fügt man so viel HCl hinzu, um 2 Prom. zu erhalten, gleichzeitig brachte man eine Fibrinflocke hinein.

Die gesamten Resultate finden sich in folgender Tabelle:

Mikroorganismenarten		Nach 5 Minuten	Nach 5 Tagen
1	Staph. aureus + Staph. albus + tetragenus septicus	0	0
2	Bac. coli + typhi	0	0
3	" Friedländer + cavidica	0	0
4	" prodigiosus	+ 0	0
5	" pyocyanus	0	0
6	" subtilis + Bac. megatherium	0	0
7	" putrificus α	+	0
8	" " β	+	0
9	" botulinus	+	0
10	Vib. septicus	+	0
11	" cholerae massauensis	+	0
12	Aspergill. niger	+	0

Schlußfolgerung: Nicht nur sterilisierte Bouillonkulturen von Fäulnisbakterien, sondern auch reine Bouillonkulturen von *Staphylococcus tetragenus*, *Bac. coli*, *Bac. typhi*, *Bac. Friedländer*, *Bac. cavicida*, *Bac. prodigiosus*, *Bac. pyocyaneus*, *Bac. subtilis*, *Bac. megatherium*, *Bac. putrificus*, *Bac. botulinus*, *V. septicus*, *V. cholerae*, *V. massauensis*, *Asperg. niger* besitzen eine antipeptische (keine antitryptische) Wirkung. Die 20-tägigen Bouillonkulturen dieser Mikroorganismen zerstörten innerhalb 3 Tagen vollständig das Pepsin.

X. Wirkung der Bakterienprodukte auf Pepsin, Trypsin, Ptyalin und Emulsin.

Nachdem wir die Antienzymwirkung der Mikrobenprodukte bezüglich des Pepsins nachgewiesen hatten, wollten wir sehen, ob dasselbe ebenfalls der Fall sei bei anderen Enzymen, wie z. B. Ptyalin und Emulsin.

Versuch: 11. Juni 1909. Zu drei Tage alten Bouillonkulturen von Mischungen von Fäulnis mikroorganismen fügt man so viel Pepsin hinzu, um 1:2000, so viel Trypsin, um 1 Prom., so viel Ptyalin und so viel Emulsin, um 2 Proz. zu erhalten. Sodann fügt man einer Hälfte dieser 4 Bouillonmischungen plus Enzyme 1½-proz. Karbolsäure hinzu, die andere Hälfte bleibt, wie sie ist. Die 8 Mischungen werden in eine Temperatur von 37° C gebracht und nach 5 Minuten, 5, 10, 20, 30, 60 Tagen wird die Wirkung der 4 Enzyme folgendermaßen probiert:

a) Das Pepsin wird probiert, indem man zu 5 ccm Bouillon so viel Salzsäure hinzufügt, als genügt, um 2 Prom. zu erhalten, gleichzeitig bringt man eine Fibrinflocke hinein. b) Das Trypsin wird in gleicher Weise probiert, natürlich ohne Zusatz von HCl. c) Man probiert das Ptyalin, indem man ½ ccm die Mischung in 5 ccm 1-proz. Stärke löst, mit Zusatz von 1-proz. Karbolsäure begießt und nach der Fehlingschen Methode aufsucht, nachdem die Mischung 24 Stunden lang in einer Temperatur von 37° C gehalten wurde. d) Die Emulsinprobe findet statt, indem man ½ ccm der entsprechenden Mischung in 5 ccm Amygdalin zu 2 Proz. mit einer 1-proz. Karbolsäure gießt und nach 24 Stunden untersucht, ob man das Benzaldehyd riecht.

Die Kontrollproben mit Gemisch von Bouillonkulturen und Salzsäure allein, von Bouillonkulturen ohne HCl, von wässriger und mit Karbolsäure versetzter Pepsin-, Trypsin-, Ptyalin- und Emulsinemulsionen wurden nicht unterlassen. Diese waren um so erforderlicher, da die Mikroorganismen und die Mikrobenenzyme von selbst das Fibrin lösen und zu Irrtum führen können.

Enzyme	Mit Phenol nach						Ohne Phenol nach					
	5 Min.	5 Tagen	10 Tagen	20 Tagen	30 Tagen	60 Tagen	5 Min.	5 Tagen	10 Tagen	20 Tagen	30 Tagen	60 Tagen
{ Pepsin	0	0	0	.	.	.	+ +	+	0	.	.	.
{ Bouillon + HCl	0	0	0	.	.	.	0	0	0	.	.	.
{ Trypsin	+ +	— +	— +	0	.	.	+ +	+ +	+ +	+ +	.	.
{ Ptyalin	+ +	+ +	+ +	+	—	.	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	.
{ Bouillon allein	0	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0	.
{ Emulsin	+ +	+ +	+	+ +	+ +	.	+ +	+ +	+	+ +	+ +	.
{ Bouillon allein	0	0	0	0	0	.	0	0	0	— 0	0	.

Schlußfolgerung: Aus dieser Tabelle ergibt sich: 1) Daß die Mikrobenprodukte (sterilisierte Bouillonkulturen) die Wirkung besitzen,

das Pepsin auch nach einem Kontakte von 5 Minuten zu inaktivieren, daß sie hingegen auf das Trypsin, das Ptyalin und auf das Emulsin nicht einmal nach 10 Tagen eine deutliche Wirkung ausüben.

Eine Abschwächung dieser 3 Enzyme nach 10 Tagen ist der Wirkung der Wärme und der Anwesenheit von Wasser zuzuschreiben. 2) Daß die Auflösung des Fibrins durch nicht sterilisierte Bouillonkulturen den Mikroben und ihren proteolytischen Enzymen zuzuschreiben ist.

Zusammenfassung der erzielten Resultate.

A. Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die lebenden und toten Mikroorganismen.

Schlußfolgerung: Das Trypsin, Papain, und Pepsin, selbst in der starken Lösung von 20‰ und selbst nach zwei Monaten und sogar nach einem Jahre (Pepsin) verursachten unter den verschiedensten Verhältnissen keine Veränderung in den morphologischen und biologischen Charakteren der zahlreichen (19) studierten Schizo-, Blasto- und Hyphomyceten. Man nahm keine Veränderung bezüglich der äußeren Form, der inneren Struktur, der Membran, Kapseln, Wimpern, Zoogloen usw., der Anordnung, der Entwicklungsschnelligkeit, der Vermehrungsarten (Spaltung, Sporulation, Sprossung, Keimung der Sporen usw.), der Bewegung, der Pigmentbildung, der pathogenetischen Wirkung etc. wahr.

3) Wenn sämtliche studierte lebende Mikroorganismen in Pepsin, Trypsin und Papain selbst mehrere Monate hindurch unverändert lebten, so wurden nicht alle abgestorbenen Mikroorganismen augenscheinlich verdaut oder verändert in ihren morphologischen Eigenschaften, sondern einige blieben alteriert, andere nicht. In der Tat wurden der *Bac. typhi* und der *Bac. coli* besonders in Pepsin zerstört und agglutiniert; verändert wurde *Bac. megatherium* in Papain und Trypsin, während es fast intakt im Pepsin blieb. Morphologisch mehr oder weniger verändert wurde *V. cholerae* und *V. massauensis*; diejenigen jedoch, welche die größten Veränderungen erlitten, waren der *Bac. pyocyaneus* und besonders das Mycelium verschiedener Hyphomyceten, die bis auf die einfache Membran herabgesetzt wurden. Hingegen widerstanden vollständig die Kokkenformen, wie die Staphylokokken und die Tetragenen. Auch bezüglich der Saccharomyceten nimmt man keine deutliche Veränderung wahr.

B. Wirkung der Mikroorganismen auf die proteolytischen Enzyme.

4) Die Schizo-, Blasto- und Hyphomyceten nach zwei Monaten:
a) Selbst nach einem Jahre verursachten sie keine Veränderung in der Wirkung des Trypsins und des Pepsins; man bemerkte keinen Unterschied zwischen geimpften und sterilen Lösungen, die unter gleichen Verhältnissen gehalten wurden. Die lebenden Mikroorganismen waren gegenüber der von mir aufgestellten und später von Papasotiriu

unterstützten Ansicht imstande gewesen, das Trypsin und das Pepsin zu zerstören. Diese lebenden Enzyme würden also kein Nährmaterial für die Mikroorganismen darstellen.

5) Die Mikroorganismen entwickeln sich gut nicht nur auf sehr verdünnten Lösungen (1:1000) von durch Wärme inaktiviertem, sondern auch auf sehr aktivem Trypsin, was zu der Annahme führen könnte, daß in einer Trypsinlösung von 1:1000 noch eine genügende Menge zugemischter Stoffe sei, welche zur Ernährung der Mikroorganismen geeignet sind. Die Tatsache, daß Lösungen von Trypsin zu 1:1000 vollständig ihre Aktivität (wie die sterilen Kontrollen) auch bei mehrwöchentlichem Aussetzen der Wirkung der Mikroorganismen erhalten, führt uns zu dem Schlusse, daß die genannten Enzyme (Pepsin und Trypsin) keine Nährflüssigkeit für die Mikroorganismen darstellen.

6) Während die wässerigen Pepsinlösungen nicht bedeutend, infolge monatelanger Einwirkung der Mikroorganismen, an ihrer Aktivität verloren, wurden hingegen die Bouillonlösungen in kurzer Zeit zerstört.

7) Der Meinung Papasotirious zuwider ist die das Pepsin inaktivierende Wirkung nicht auf die Mikroorganismen zurückzuführen (wie ich bereits oben erklärt habe), sondern auf ihre Produkte. Welche diese mit einer antipeptischen Wirkung begabten Produkte sind, bleibt noch zu untersuchen.

8) Eine antipeptische Wirkung besitzen nicht nur die Mikrobenprodukte der Bouillonkulturen von Mischungen von Fäulnismikroorganismen, sondern auch *Staphylococcus tetragenus*, *Bac. coli*, *Bac. typhi*, *Bac. Friedländer*, *Bac. megatherium*, *Bac. putrificus*, *Bac. botulinus*, *V. septicus*, *V. Cholerae*, *V. massauensis*, *Asper. niger*. Die 20-tägigen Bouillonkulturen dieser Mikroorganismen zerstörten innerhalb dreier Tage vollständig das Pepsin.

9) Die Mikrobenprodukte von Bouillonkulturen besitzen nur eine antipeptische Wirkung, da sie keine Wirkung auf das Trypsin, das Ptyalin und das Emulsin nicht einmal nach 10 Tagen ausübten.

Nachdruck verboten.

Antiwutimpfung, vorgenommen an einigen Hunden mittels einer Mischung von Fermischem Vaccin und Antiwutserum vom Pferde.

[Hygienisches Institut zu Sassari (Leiter Prof. Cl. Fermi).]

Von Dr. R. Repetto, Assistenten.

Am 12. März d. J. wurden in Sassari verschiedene Hunde von einem Hunde gebissen, welcher, wie die mikroskopische Untersuchung des Gehirns ergab, sicher von der Tollwut befallen gewesen war.

8 dieser Hunde wurden einer Antiwutkur unterzogen, andere entzogen sich der Beobachtung.

Von den Behandelten waren 2 in die Schnauze, 3 in die Weiche, 1 an das Ohr und 1 an den Fuß gebissen worden; alle 7 wiesen Riß- und Quetschwunden auf, der 8. war nur mit den Zähnen ergriffen worden, wies aber keine Verletzung auf.

Die beiden an der Schnauze gebissenen Hunde begannen die Kur am Tage nach dem Bisse, 2 von den 3 in den Rücken gebissenen kamen in Behandlung 4 Tage später und einer 6 Tage später; der in das Ohr gebissene 2 Tage nach der Verletzung, der am Fuße verwundete 6 Tage darauf und der verdächtige nach 4 Tagen.

Die Kur dauerte 25 Tage. In den ersten 3 Tagen wurde Fermis Vaccin (ferner Virus mit Karbolsäure geschwächt) mit Zusatz von Antiwutserum vom Pferde injiziert; in den folgenden Tagen nur Vaccin.

3 Monate sind bereits vergangen und die 8 immunisierten Hunde sind noch am Leben.

Als Kontrolle könnten 2 Hunde dienen, die als sicher wutkrank in Sassari getötet wurden und die aller Wahrscheinlichkeit nach zu den gebissenen Hunden gehörten, die aber nicht immunisiert werden konnten, weil sie entflohen waren.

Schlußfolgerung.

Mit dem Fermischen mit Serum versetzten Vaccin ist es mir möglich gewesen, die 8 gebissenen Hunde zu retten, von denen einige sogar erst 6 Tage nach dem Bisse der Behandlung unterzogen worden waren.

Nachdruck verboten.

Sur l'action lyssicide de la papaine et du suc blanc de Ficus carica.

[Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par Prof. **Claudio Fermi.**

Marie¹⁾, à l'Institut Pasteur de Paris, à l'aide de deux expériences instituées sur trois animaux, démontra une action lyssicide ou, au moins une action atténuante de la papaine sur le virus fixe.

Voici le résumé de ce fait important:

La papaine a donné les résultats suivants. Dans une première expérience, un lapin reçoit dans le cerveau une mélange de 10 gouttes d'émulsion centésimale virulente et de 3 gouttes d'une solution de papaine (de Merck) à 5 p. 100; il prend la rage seulement au deuxième jour. Une autre fois, deux cobayes sont inoculés avec 0,10 c. c. d'une mélange ayant séjourné trente minutes à 37°.

Virus fixe à 1 p. 100	1 c. c.
Eau physiologique	2 c. c.
Papaine à 5 p. 100	10 gouttes

1) Marie, A., Action de quelques substances sur le virus fixe. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 63. 1907. p. 430.) Voyez de même le livre de cet A.: L'étude expérimentale de la rage, p. 126.

L'un des animaux prend la rage avec un retard de cinq jours, comme dans l'expérience précédente; l'autre n'a rien.

La papaïne paraît donc au moins affaiblir le virus rabique.

Plus que pour le virus rabique ce fait est de grande importance pour la biologie générale et spécialement pour la question de l'auto-

Date	Animaux en expériment	Quantité de pa- païne 5 %	Activité de la papaïne	Durée de l'action de la papaïne sur le virus fixe	Résultats
1^{er} Echantillon de papain.					
29 4. 08	2 souris	0,1 c. c.	frais	30' (à 35°)	survécus
7 5. 08	2 "	0,4 "	"	30' (à 35°)	"
7 5. 08	2 "	0,1 "	"	30' (à 35°)	"
7 5. 08	2 " de contrôle				morts de rage
2^e Echantillon de papain.					
2 5. 09	1 souris	0,5 c. c.	frais	1'	mort de rage
2 5. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	1'	"
2 5. 09	1 "	0,5 "	frais	30' (à 35°)	survécus
2 5. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	30' (à 35°)	mort de rage
2 5. 09	1 "	0,5 "	frais	5 heures (à 35°)	survécu
2 5. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	5 " (à 35°)	"
20 5. 09	1 "	0,5 "	frais	30' (à 35°)	"
20 5. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	30' (à 35°)	"
20 5. 09	1 "	0,5 "	frais	5 heures (à 35°)	"
20 5. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	5 " (à 35°)	mort de rage
7 6. 09	1 "	0,5 "	frais	30' (à 35°)	survécu
7 6. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	30' (à 35°)	mort de rage
7 6. 09	1 "	0,5 "	frais	5 heures (à 35°)	survécu
7 6. 09	1 "	0,5 "	bouillie pour 10'	5 " (à 35°)	mort de rage
14 4. 09	2 "	0,1 "	frais	30' (à 35°)	un survit, l'autre meurt
14 4. 09	2 "	0,1 "	chauffé à 80° pour 30'	30' (à 35°)	un survit, l'autre meurt
14 4. 09	2 " de contrôle				meurt de rage
3^e Echantillon de papain.					
14 4. 09	2 souris	0,1 c. c.	frais	30' (à 35°)	un survit, l'autre meurt
14 4. 09	2 "	0,1 "	chauffé à 80° pour 30'	30' (à 35°)	un survit, l'autre meurt
15 6. 09	1 "	0,5 "	frais	30' (à 35°)	survécu
15 6. 09	1 "	0,5 "	chauffé à 80° pour 30'	30' (à 35°)	mort de rage
15 6. 09	1 "	0,5 "	frais	5 heures (à 35°)	survécu
15 6. 09	1 "	0,5 "	chauffé à 80° pour 30'	5 " (à 35°)	"
15 6. 09	1 " de contrôle				morts de rage
Suc blanc de Ficus carica (33 %)					
17 6. 09	1 souris	0,5 c. c.	frais	1'	survécu
17 6. 09	1 "	0,5 "	"	30' (à 35°)	"
17 6. 09	1 "	0,5 "	"	5 heures (à 35°)	"
17 6. 09	1 "	0,5 "	chauffé à 80° pour 30'	1'	mort de rage
17 6. 09	1 "	0,5 "	chauffé à 80° pour 30'	30' (à 35°)	survécu
17 6. 09	1 "	0,5 "	chauffé à 80° pour 30'	5 heures (à 35°)	"
17 6. 09	2 " de contrôle				morts de rage

digestion et de l'action des enzymes sur la cellule vivante parce-que ce serait le premier cas d'un enzyme protéolytique capable de tuer un élément vivant.

Pour cela je crus très intéressant que d'étudier soigneusement ce fait en cherchant de répondre aux questions suivantes:

1° La papaïne du commerce est-elle vraiment capable de détruire ou d'atténuer le virus rabique?

2° L'action détruisante de la papaïne dépend-elle de l'activité protéolytique de cet enzyme ou plutôt des substances lyssicides mêlées au même enzyme?¹⁾

3° Comment se comport-il le suc blanc de *Ficus carica*?

Voici le tableau des 35 recherches que j'ai instituées à ce propos sur 47 murides (vide tabl. p. 266).

Résultats.

1° Avec un contact de 5 heures ou même seulement de 30 minutes à la température de 35° une solution aqueuse de papaïne 5 % en quantité de 0,5—0,1 c. c. peut inactiver complètement 1 c. c. de virus fixe 1 %, inoculé aux murides par voie subcutanée.

En effet 13:15 des souris inoculés avec les susdites mélanges de papaïne non inactivée par la chaleur et de virus fixe ont survécu.

2° Que l'action lyssicide probablement n'est pas donnée de l'activité protéolytique de la papaïne, mais peut-être d'autres substances mêlées à la papaïne même.

En effet outre que l'activité de la papaïne usée était nulle (se montrant inactive même sur la gélatine 5 %) en la supprimant puis complètement à l'aide de l'échauffement à 80° pour 30 minutes ou même à l'aide de l'ébullition pendant 10 minutes, l'action lyssicide reste inaltérée en 5 cas sur 12. Il est aussi probable que la chaleur peut altérer le pouvoir supposé des substances lyssicides mêlées à la papaïne et que à l'aide d'autres moyens on pourra supprimer complètement l'activité digestive de cet enzyme en lui conservant son action lyssicide.

3° De 6 expériences instituées à ce propos, il résulte que 0,5 c. c. d'une solution aqueuse 33 % de suc blanc de *Ficus carica* soit frais, soit chauffé pendant une heure à 80°, neutralisent toujours, même avec un contact de 30 minutes et en un cas d'une minute, le virus fixe (1 c. c. 1 %).

Tout cela démontrerait que le pouvoir lyssicide soit de la papaïne soit du suc blanc de *Ficus carica*, n'est pas donné de l'activité protéolytique de l'enzyme, mais, au contraire, de l'action d'une mélange de substances lyssicides.

Conclusion générale.

1° La papaïne du commerce non seulement atténue le virus rabique, comme Marie soutenait, mais elle le détruit.

2° La même action, mais plus énergique, est exercée par le suc blanc du *Ficus carica*.

3° Probablement cette action n'est pas due à l'activité de l'enzyme protéolytique, mais à substances lyssicides mêlées au même enzyme. En

1) Marie ne dit pas si sa papaïne était active ou non.

effet la papaïne et le suc blanc non actifs ou inactivés entretiennent toute, ou en part, leur action lyssicide.

4° Donc, les deux susdits enzymes, comme, du reste, font les autres enzymes protéolytiques (pepsin, enzymes microbiques, etc.) sont inactifs sur le virus rabique, confirmant ainsi la règle que les enzymes protéolytiques sont inactifs sur la cellule vivante.

Nachdruck verboten.

Das Agglutinationsvermögen einiger Körperflüssigkeiten beim Mediterranfieber.

[Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut des städtischen Krankenhauses zu Palermo (Direktor: Prof. G. Pollaci).]

Klinisch-bakteriologische Untersuchungen.

Von Dr. G. Pollaci und Dr. S. Ceraulo.

Zwecks besseren Studiums der Agglutinationserscheinung beim Mediterranfieber und in der Absicht, eine dem Kranken weniger lästige und leichter handliche Technik zu liefern, haben wir uns entschlossen, die Agglutinationsreaktion nicht nur an dem Blutserum der Kranken mit Maltafieber, sondern auch an der Flüssigkeit der Vesikantienblasen, dem Speichel und dem Harn anzustellen.

Bei der Eberth'schen Infektion sind diese Untersuchungen mit verschiedenem Erfolg vorgenommen worden, und außer dem Vesikantien-serum, dem Speichel, Harn, der Milch, den Tränen, dem Kammerwasser, der Galle, der Samenbläschenflüssigkeit, der Oedemflüssigkeit, dem Eiter-serum und dem der serösen Höhlen sind auch die Auszüge verschiedener Organe auf ihr Agglutinationsvermögen untersucht worden, wie Schilddrüse, Niere, Eierstock, Leber, Milz, Mesenterialdrüsen. Hier wurde jedoch eine in bezug auf die des Blutserums sehr niedrige Agglutinationszahl gefunden.

Was sodann das Maltafieber angeht, so sind außer der Zammit'schen Milchreaktion oder Zammit-Test und einigen sich widersprechenden Proben von Gardon, Spagnolio und Singer am Urin keine weiteren Untersuchungen in dieser Hinsicht angestellt worden.

Die Untersuchungen Gardons über die Agglutination des Harns von einigen Kranken mit Mediterranfieber fielen negativ aus.

Spagnolio und Singer erzielten bei einer durch wiederholte subkutane Einspritzungen von Melitensis fiebernd gemachten Ziege vollständige makroskopische und mikroskopische Urinagglutination im Verhältnis von 1:50. Positive Reaktion erhielten sie mit dem Urin von drei Patienten mit florider Maltainfektion und negative bei zwei schon geheilten Individuen und bei fünf mit sonstigen Krankheiten.

* * *

Wir haben unsere Untersuchungen damit begonnen, daß wir bei den Kranken mit Mediterranfieber das Agglutinationsvermögen des Vesikantien-serums prüften, indem wir gleichzeitig weitere Kontrollunter-

suchungen an dem Vesikantienserum gesunder oder an anderen Krankheiten leidender Individuen anstellten.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf 25 Kranke mit Maltafieber, das entweder durch die Blutbakterioskopie oder durch die gewöhnliche Wrightsche Reaktion sichergestellt war, auf 25 gesunde Individuen von verschiedenem Geschlecht und Alter und auf 50 sonstige Patienten mit den verschiedenartigsten akuten und chronischen Krankheiten: Pneumonie, Bronchitis, Pleuritis, Herzleiden, Bauchfellentzündung, Leberentzündung, Gastroenteritis, Tuberkulose der Lunge, der Serosae, der Drüsen, Typhusinfektionen, chirurgische Sepsen usw.

Bei sämtlichen mit *Micrococcus melitensis* Infizierten wurde konstant positive Reaktion erhalten, und das Vesikantienserum hatte ein etwas geringeres Agglutinationsvermögen als das Blutserum.

Durch vergleichende Untersuchungen haben wir festgestellt, daß das Agglutinationsvermögen des Vesikantienserums dasselbe Verhalten zeigt, wie das des Blutserums; es ist von den ersten Tagen der Infektion an vorhanden und läßt sich in einigen Fällen auch einige Zeit nach der Heilung konstatieren.

Hiervon haben wir uns überzeugen können, indem wir diejenigen Individuen benutzten, die wir gleich vom Beginn der Krankheit an zu studieren und auch nach erfolgter Heilung zu verfolgen Gelegenheit hatten.

Im Vesikantienserum haben wir nur einmal die auffallende Erscheinung erhalten, welche sich auch im Blutserum vorfand, die Verdünnung von 1:50 fiel negativ aus, dagegen erschien die von 1:350 positiv.

Negativ zeigte sich konstant und in verschiedenen Perioden die mit dem Serum der Vesikantien vorgenommene Reaktion, die gesunden oder an sonstigen Krankheiten leidenden Individuen appliziert worden waren.

Die Flüssigkeit der Vesikantien besitzt bei den Kranken mit Maltafieber die nämlichen, für den *Melitensis* spezifischen agglutinierenden Stoffe, wie das direkt aus dem Blut gewonnene Serum, und obwohl sie das Produkt einer Entzündung ist, welche Aenderungen in der chemischen Konstitution und den biologischen Eigenschaften des Serums selbst hervorgerufen haben könnte, zeigt sie die für den Bruceschen *Micrococcus* spezifischen Agglutinine unverändert.

* * *

Unsere Untersuchungen an dem Speichel sind zahlreicher gewesen, weil wir es für notwendig hielten, die Kontrolluntersuchungen auf eine größere Anzahl auszudehnen.

Wir haben daher den Speichel von 150 Individuen von verschiedenem Alter und Geschlecht untersucht, von denen 50 gesund und 100 an den verschiedenartigsten akuten und chronischen Krankheiten litten, die wir der Kürze halber nicht weiter aufzählen.

Die Untersuchung wurde an demselben Individuum mehrmals wiederholt, und es wurde darauf geachtet, daß die Sekretion in den verschiedenen Momenten der Verdauungstätigkeit gesammelt wurde, bei leerem Magen, bei vollem Magen und während des Kauens.

In jedem Fall verwendeten wir gemischten Speichel; bei all diesen zahlreichen Untersuchungen hat der Speichel ohne irgendwelche Verdünnung, sondern einfach filtriert, niemals Agglutinationsvermögen für den *Micrococcus melitensis* gezeigt.

Nur bei zwei Individuen, einem gesunden und einem herzleidenden Mann (Mitralstenose und -Insuffizienz) haben wir ein ganz geringes

Agglutinationsvermögen gefunden, welches sich durch Verdünnung des Speichels mit physiologischer Lösung zu gleichen Teilen zerstören ließ.

Bei Untersuchung des Serums dieser Individuen ließ sich agglutinierende Reaktion für den Melitensis bei der Verdünnung von 1:40 konstatieren.

Bevor wir zur Analyse des Speichels der Kranken mit Maltafieber übergangen, haben wir es für notwendig gehalten, einige Kontrolluntersuchungen anzustellen, die ebenfalls für das vollständige Studium der Erscheinung von Nutzen sind.

Da uns die Möglichkeit der Agglutination mittels einiger chemischer Stoffe, wie Formalin, Chrysoidin, Wasserstoffsuperoxyd, Sublimat, Safranin, Vesuvium, Fuchsin, Ammoniumsulfat, Essigsäure, Milchsäure, Natronlauge, Alkohol von 95°, bekannt war, haben wir uns vergewissern wollen, ob einige durch den Speichel ausscheidbare medikamentöse Substanzen die Erscheinung reproduzieren und dadurch zu falschen Deutungen Anlaß geben könnten.

Zu diesem Zweck haben wir den Speichel gesunder Individuen geprüft, denen auf verschiedenem Wege die in der medizinischen Praxis meist gebräuchlichen Medikamente verabfolgt worden waren, von denen einige äußerst leicht durch den Speichel ausscheidbar: Jodide und Bromide, Chininsalze, Quecksilbersalze, Eisensalze, Arsenik- und Salicylsäurepräparate.

Die wiederholt versuchte Agglutinationsreaktion war stets negativ.

Nachdem wir uns so vergewissert hatten, daß der Speichel der gesunden oder an den verschiedenartigsten Krankheiten leidenden Individuen keinerlei Agglutinationsvermögen auf den *Micrococcus melitensis* besaß, und daß andererseits die in der Therapie meist gebräuchlichen Substanzen die Reaktion nicht beeinflussen, gingen wir zum Studium der Erscheinung bei Kranken mit Meditteranfieber über.

Die zu diesem Zweck verwendeten Patienten beliefen sich auf 20; bei allen wurde die Diagnose entweder durch die Blutbakterioskopie oder die Wrightsche Reaktion kontrolliert.

Die 20 Patienten zeigten nun ohne Ausnahme positive und vollständige Speichelreaktion.

Das Verdünnungsverhältnis, bei dem sie auftrat, ist ein verschiedenes gewesen.

5 Kranke besaßen agglutinierenden Speichel unverdünnt, 5 in dem Maximalverhältnis von 1:5, 6 bei 1:10, 2 bei 1:20, einer bei 1:30, einer bei 1:50.

Diese hohen Zahlen stimmen stets mit den hohen Agglutinationsindices des Blutserums überein. In der Tat wurde die höchste Speichelverdünnung von 1:30 und 1:50 nur bei den Kranken erhalten, deren Serum in dem Maximalverhältnis von 1:2000 und 1:5000 agglutinierte.

Der Speichel wurde täglich analysiert, und zwar in einigen Fällen verschiedene Male im Laufe des Tages.

Mit einer leichten Variante im Verhalten der Verdünnung hat sich die Agglutinationsreaktion stets anwesend gezeigt.

Den Speichel am Anfang der Krankheit zu prüfen, haben wir keine Gelegenheit gehabt, da wir die betreffenden Fälle erst bei vorgeschrittener Krankheit zur Beobachtung bekamen. Bei 3 Patienten aber konnten wir die Speichelreaktion nach Aufhören des Fiebers versuchen. Dieselbe fiel bei zweien, ca. 2 Monate nach der Heilung, negativ aus, und negativ war auch die Serumreaktion da, wo während des Fieberprozesses einer

Serumreaktion von 1:300, 1:250 eine Speichelreaktion von 1:5 entsprach.

Bei dem anderen Kranken, welcher während der Akme der Infektion positive Serumreaktion bei 1:700 und Speichelreaktion bei 1:10 zeigte, erhielten wir ungefähr 30 Tage nach der Heilung positive Serumreaktion bei 1:80 und Speichelreaktion bei 1:2.

Die Erscheinung der Gruppenagglutination, auf die wir den Speichel unserer Patienten mit den nämlichen Mikroorganismen wie bei Prüfung der Erscheinung im Serum, nämlich den Bacillen der Typhus-Coli-Gruppe (Eberth, Paratyphus A und B, Coli, Gärtner), dem Shigaschen Dysentericus, zwei Streptokokkenvarietäten, zwei Staphylokokken (albus und aureus) und einem Tetragnus untersuchten, war stets negativ.

Die untersuchten Speichel hatten im allgemeinen basische Reaktionen, einige waren neutral, wenige schwach sauer, die Erscheinung der Agglutination aber erfuhr keine Aenderungen mit dem Wechseln der Reaktion der Flüssigkeit.

Der Kauakt, die Verdauungsperiode haben keinen wahrnehmbaren Einfluß auf die Entstehung der Agglutination gezeigt.

Unsere positiven Resultate stimmen nicht mit denjenigen überein, welche Widal und Sicard, Achard und Bensaude bei der Analyse des Speichels der Submaxillaris und Parotis der Typhuskranken erhalten haben.

Die Untersuchungen dieser Beobachter sind jedoch nicht zahlreich genug gewesen und lassen starke Zweifel über die Einwurfsfreiheit der eingeschlagenen Technik bestehen.

Doch beseitigt dies nicht die Möglichkeit, daß bei dieser speziellen Infektion die Speichelreaktion in bestimmten Momenten und in einzelnen Fällen negativ für den Eberthschen Bacillus ausfallen könnte.

Die Speichelreaktion im Meditteranfieber und die Verdünnung, bei der dieselbe auftritt, im Verhältnis zu der des Serums, könnten die Vermutung von Kraus und Schiffmann über den Ursprung der Agglutinine im Organismus bestärken.

Durch eine lange Reihe von Versuchen wurde von diesen Autoren nachgewiesen, daß die Agglutinine zuerst im Blutserum auftreten und nur, wenn sie in diesem eine hinreichende Menge erreicht haben, in den übrigen Organen erscheinen.

Die genannten Beobachter nehmen an, daß im Kreislaufsystem der Ursprung der Agglutinine zu suchen ist, und zwar könnten sie in ihm erzeugt werden entweder durch die geformten Elemente des Blutes oder durch das Gefäßendothel, ja auf letzteres Gewebe führen sie vorwiegend die Bildung solcher spezifischen Antikörper zurück.

Das Resultat unserer Analysen, namentlich in bezug auf die Existenz geringerer Mengen von Agglutininen im Speichel gegenüber denjenigen des Serums, könnte eine der Hypothese von Kraus und Schiffmann günstige Tatsache erbringen, obwohl dasselbe der anderen von Viccia — aus der Schule von Castellino — aufgestellten Hypothese über die Entstehung der agglutinierenden Antikörper nicht entschieden entgegensteht.

Dieser Autor glaubt, ausgehend von der Vorstellung, daß die Agglutinine nichts anderes darstellen als die Abwehr der Körperzellen gegen die agglutinierende Wirkung, welche die Bakterien auf sie zu entfalten suchen, es sei jede Zelle, sobald sie nur geeignet durch einen der-

artigen bakteriellen Einfluß gereizt wird, imstande, Agglutinine zu erzeugen.

Die Tatsache, daß in den Organextrakten und in den verschiedenartigen Sekretionen agglutinierende Antikörper in bedeutend geringerer Menge angetroffen werden als im Serum, wie von uns und anderen nachgewiesen worden ist, würde nicht dem multiplen Ursprung der Agglutinine entgegenstehen, da man ihren größeren Gehalt im Blute als in den Geweben durch die übrigens nicht unanfechtbare Annahme begründen könnte, daß die verschiedenen Agglutinineerzeuger diese in dem Maße, wie sie entstehen, in das Blut ergießen, da sie in ihrem molekulären Komplex nicht eine Substanz zurückhalten und aufspeichern können, die, obwohl Frucht ihrer eigenen Tätigkeit, doch sicher eine ernstliche Störung in ihr chemisches Gleichgewicht bringen würde.

Jedenfalls bildet der Ursprung der Agglutinine, ihre Entstehungsweise und ihr Wirkungsmechanismus auf die Bakterien ein sehr komplexes Problem, verknüpft mit dem anderen überaus vielseitigen der Immunität, das noch immer in dem verschiedensten und widersprechendsten Sinne erörtert wird und für dessen Lösung man nicht auf die einfachen klinischen Untersuchungen rechnen kann, sondern an den umfassenden und verschiedenartigen Beitrag des Laboratoriumexperimentalismus appelliert werden muß.

* * *

Unsere Untersuchungen über das Agglutinationsvermögen des Urins der Kranken mit Maltafieber wurden an den nämlichen Patienten ausgeführt, welche uns für die Forschungen über die Serumreaktion der Vesikantien und die Speichelreaktion dienten.

Bei wiederholter Prüfung des Harns von 20 Patienten haben wir nur bei 4 positive Agglutinationsreaktion gefunden.

Diese erschien in zwei Fällen äußerst schwach, so daß sie keine Verdünnung vertrug, bei den beiden anderen konnte das Phänomen noch bei dem Verhältnis von 1:3, 1:5 wahrgenommen werden. Bei allen 4 Kranken bezeichnete die Serumreaktion eine sehr hohe Zahl: 1:1000, 1:1500, 1:2000 und 1:5000, und das höchste Verhältnis der Urinreaktion 1:5 deckte sich eben mit der maximalen Serumreaktion 1:5000.

Auch bei dem Urin haben wir Kontrolluntersuchungen mit gesunden oder an sonstigen Krankheiten leidenden Individuen angestellt, indem wir hierzu dieselben Individuen benutzten, welche uns den Speichel und das Vesikantienserum geliefert hatten.

Die Resultate sind für die Urinreaktion konstant negativ gewesen, ebenso wie auch die Untersuchungen über die Agglutination des Urins von Individuen, denen allgemein in der Therapie gebräuchliche Medikamente, und zwar dieselben wie bei dem Speichel, verabfolgt worden waren, negativ ausfielen.

Wir haben auch untersucht, ob eventuell in dem traubenzucker-, eiweiß- und gallenfarbstoffhaltigen Urin Agglutination vorhanden wäre, und zwar weil uns die Untersuchungen Köhlers vorschwebten, welcher behauptet, es ließe sich Agglutination der Typhusbacillen auch mit dem verdünnten Serum von an einfachem Ikterus leidenden Individuen erhalten.

Der wiederholt, verdünnt oder unverdünnt, analysierte Urin von Diabetikern, Albuminurikern und Ikterikern, in einer Gesamtzahl von 10, hat niemals Agglutinationsvermögen auf den Brucseschen Micrococcus gezeigt.

Bei den 4 Patienten mit positiver Urinreaktion haben wir die Gruppenagglutination für die gleichen bei der Speichelreaktion verwendeten Mikroparasiten geprüft.

Auch bei diesen Untersuchungen war der Ausgang konstant negativ.

Die Resultate unserer Analysen über die Urinreaktion beim Meditterranfieber stimmen demnach mit den sich widersprechenden von Gardon, Spagnolio und Singer überein.

Die Urinreaktion ist bei den mit Maltafieber Infizierten selten anzutreffen und findet sich, wenn sie vorhanden ist, bei ganz niedriger Verdünnung und nur in denjenigen Fällen, welche eine sehr hohe Serumreaktion besitzen.

Es ist demnach die Vermutung nicht fernliegend, daß die Kranken Gardons keine Urinreaktion zeigten, weil sie zum Unterschiede zu denjenigen von Singer und Spagnolio eine verhältnismäßig niedrige Serumreaktion besaßen.

Und der auffallende Unterschied bei unseren Patienten zwischen Speichel- und Urinreaktion darf nicht auf den Mengenunterschied des durch die beiden verschiedenen Drüsenapparate abgesonderten flüssigen Produktes und demnach auf eine verschiedene Verdünnung der Agglutinine zurückgeführt werden.

Dieser Unterschied ist im Grunde genommen, wenn er vorhanden ist, ziemlich gering, da die täglich beim Menschen abgesonderte Gesamtspeichelmenge durch eine Infinität von Umständen wechselt. Sie schwankt gewöhnlich zwischen 300—1500 g (Wundt), zwischen 1000—2000 g (Bidder und Schmidt), zwischen 500—1500 g (Bottazzi), alles Quantitäten, die nicht hinter der mittleren Urinmenge zurückbleiben.

Eher ist anzunehmen, daß der Grund dieses Unterschiedes in einer stärkeren Sekretion von agglutinierenden Antikörpern seitens der Speicheldrüsen liegen müsse, im Unterschied zu dem, was in der Nierendrüse der Fall ist, durch die die Ausscheidung der agglutinierenden Stoffe nur in den Fällen möglich ist, in denen ihre Bildung eine sehr reichliche ist.

Diese Anschauung jedoch hat nur den Wert einer Hypothese, und es wären in der Hinsicht eingehende experimentelle Untersuchungen notwendig, die geeignet wären, den Grund der Erscheinung aufzuklären.

Die neuerlichen Studien von Chiray und Sartory über die Agglutination des Urins der Typhuskranken leihen übrigens unserer Hypothese eine Stütze.

Diese Beobachter haben gefunden, daß der Urin der, auch albuminurischen, Typhuskranken mit positiver Serumreaktion bei 1:100 und 1:150 nicht den Eberth'schen Bacillus agglutiniert. Nach diesen Autoren ist, da die Albumine des Urins wenigstens teilweise von denen des Blutes stammen, anzunehmen, daß dieselben im Moment ihres Durchganges durch die Niere ihres Agglutinationsvermögens entkleidet werden.

Ueber die Anwesenheit der Urinreaktion am Anfang oder am Ende der Infektion liefern unsere Untersuchungen keine Aufklärungen, eben weil die wenigen Fälle, in denen sie vorhanden war, erst in unsere Beobachtung kamen, als die Krankheit weit vorgeschritten war und dann keine Gelegenheit geboten war, sie nochmals zu untersuchen, als sie in Heilung eintraten.

Die Azidität und Alkaleszenz des Urins hat, wie wir uns vergewissert haben, keinen Einfluß auf die Entstehung des Phänomens.

* * *

Rekapitulieren wir alles, was wir kurz über die Agglutinationsreaktion seitens einiger Körperflüssigkeiten beim Mediterranfieber mitgeteilt haben, so haben uns unsere Untersuchungen gezeigt, daß das Agglutinationsvermögen für den Brucseschen *Micrococcus* außer in dem Blutserum auch in dem Serum der Vesikantien, im Speichel und im Urin vorhanden ist.

Im Serum der Vesikantien wird die Agglutination des *Micrococcus* mit derselben Konstanz und fast mit derselben Intensität wie im Blutserum angetroffen.

Im Speichel tritt die Erscheinung konstant, aber bei viel geringerer Verdünnung als im Blutserum und im Serum der Vesikantien auf.

Im Urin ist das Eintreten der Erscheinung selten und wird nur bei ganz geringer Verdünnung und nur in denjenigen Fällen angetroffen, welche eine sehr hohe Serumreaktion besitzen.

Daher läßt sich bei der praktischen Anwendung der Untersuchung auf diese Reaktion nicht der Urin der Kranken verwerten, da, wenn schon die Reaktion, wie die Abwesenheit des Phänomens in dem Urin der gesunden oder an sonstigen Krankheiten leidenden Individuen zeigt, spezifisch ist, der Durchgang der agglutinierenden Antikörper durch den Nierenfilter nicht in ständiger Weise erfolgt und so dieser Reaktion das Haupterfordernis zur Verwendung im klinischen Gebiet genommen wird: die Konstanz. Die Urinreaktion beim Maltafieber ist spezifisch, aber nicht konstant noch empfindlich; dies ist hinreichend, um sie vom praktischen Gebrauch ausschließen zu lassen.

Die Serumdiagnose aus Vesikantien und die Speichelreaktion dagegen entsprechen diesen ersten Anforderungen. Und der Umstand, daß wir in dem Speichel von 2 nicht an Mediterranfieber erkrankten Individuen eine ganz leichte Andeutung von Agglutination für den *Melitensis* gefunden haben, beeinträchtigt nicht die Charakteristik der Spezifität der Speicheldiagnose.

Diese beiden Fälle haben gegenüber der ansehnlichen Zahl der negativen recht wenig Bedeutung, nichtsdestoweniger ist zu bemerken, daß diese beiden Individuen, deren Speichel unverdünnt ganz minimale agglutinierende Eigenschaften hatte, positive Serumagglutination für den *Melitensis* bei 1:40 besaßen, Zahlen, die gewöhnlich bei gesunden oder an anderen Krankheiten leidenden Individuen nicht vorgefunden werden.

Dies berechtigt uns zu der Ansicht, daß diese Individuen früher an Mediterranfieber erkrankt gewesen sind, da dieser Infektionsprozeß übersehen oder mit anderen Krankheiten verwechselt werden kann, und daß sie, obwohl geheilt, noch Spuren von positiver Reaktion im Serum und Speichel zurückbehalten hatten.

Gewiß sind wir dadurch, daß wir gefunden haben, daß die Reaktion des Vesikantienserums und des Speichels der Kranken mit Maltafieber für den *Melitensis* spezifisch und konstant ist, noch nicht dazu berechtigt, einer Untersuchungsmethode, der „Serumdiagnose“, die fast von der Allgemeinheit der Beobachter gebilligt und angenommen ist, andere Methoden zu substituieren, denen noch die Bestätigungen in größerem Umfang fehlen und die auch nicht — namentlich der Speichel — eine ebensolche Empfindlichkeit der Reaktion besitzen.

Zweifellos könnte niemand den Ersatz einer äußerst empfindlichen Reaktion, wie die des Serums, durch andere weniger empfindliche, wenn gleich spezifisch und konstant, rechtfertigen.

Doch ist man nach dem Nachweis, daß sowohl im Speichel wie im Serum der Vesikantien der Kranken mit Maltafieber sich konstant die für den Melitensis spezifischen Agglutinine vorfinden, daß diese in hinreichenden Mengen zur Erzeugung des Phänomens vorhanden sind und daß ohne dieselben in den beiden Flüssigkeiten keine Agglutination stattfindet, in der Lage, neue Untersuchungsmittel benutzen zu können, wenn die Verwendung der sogenannten klassischen Methode nicht möglich ist.

Dies ist ein in der Privatpraxis nicht gleichgültiger Vorteil.

Häufig ist man in der Tat gezwungen, auf ein so wichtiges diagnostisches Hilfsmittel zu verzichten, da es namentlich bei Kindern und auch bei einigen höchst intoleranten Erwachsenen nicht allzu leicht ist, aus dem Finger oder dem Ohrläppchen oder einer Vene die wenigen zur Gewinnung des Serums notwendigen Blutropfen zu entnehmen.

Die Aufnahme des Speichels kann ohne alle Beschwerden geschehen, und die Applikation eines kleinen, höchstens zweipfennigstückgroßen Zugpflasters ist bei den Infektionskrankheiten auch dann möglich, wenn die Nieren Zeichen von begleitender entzündlicher Läsion bieten; und die Kranken unterziehen sich gern einer Praxis, welche wohlbegründet werden kann durch therapeutische Erfordernisse, die zu finden sehr leicht ist bei einer Krankheit, in der myalgische und neuralgische Kundgebungen häufig sind.

Nachdruck verboten.

Bakteriolytische und antitoxische Wirkung der Galle.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Palermo. Direktor: Prof. L. Manfredi.]

Experimentelle Untersuchungen.

Von Dr. G. Vetrano.

I. Bakteriolytische Wirkung.

Die Deutungsweise der Wirkung der Galle auf die Mikroorganismen ist eine verschiedene, und von jeher ist sie zuweilen zugegeben (Bidder und Smidt, Tiedemann und Gmelin, Bunge, Maly und Emich), zuweilen in Abrede gestellt worden (Macfadyen, Hoppe-Seyler). Mit den Hilfsmitteln der Bakteriologie wurden die Untersuchungen mit größerer Genauigkeit wieder aufgenommen, und es konnte so festgestellt werden, daß die Galle eine bakteriolytische Wirkung auf einige Bakterien ausübt, während sie sich bei anderen ganz oder fast ganz indifferent verhält (Bernabei, Fischer, Babes, Fornet, Neufeld, Berger, Fontana usw.). Bei dem Versuch, festzustellen, welche Bakterien zu der ersten und welche zu der zweiten Gruppe gehören, sahen sich einige Autoren derartig in Verlegenheit, daß sie zur Annahme der größten Konfusion über den Gegenstand veranlaßt wurden. In Wahrheit sind, mit Ausnahme einiger Arbeiten, welche durch die mangelhafte Technik bei einer oberflächlichen Untersuchung irreleiten konnten, bei anderen die Widersprüche nur scheinbare, beruhend entweder auf der Qualität der Galle oder auf den Versuchsbedingungen.

So können z. B. unter dem ausschließlichen Gesichtspunkt der bakteriolytischen Wirkung der Galle die Arbeiten von Dupré, Gilbert

und Girode Thiroloix, Vieillard-Baron, Michaelowitsch, Mieczkowski, De Blanville, Netter, Sergent, Lipmann nicht in Betracht gezogen werden, in denen von einigen angenommen, von anderen in Abrede gestellt wird, daß die Galle normalerweise Bakterien enthalten könne. Denn wir stehen hier vor Versuchen an lebenden Organismen, welche sich nicht wie unsere Reagensgläser verhalten und wo die Umstände, welche ein Wechseln des Resultates zur Folge haben, jedesmal genau bestimmt und berücksichtigt werden müßten. Ebenso wenig war die Arbeit D'Ambrosios geeignet, die Frage aufzuklären, insofern als sich mit 19 positiven Fällen gegen 26 negative keine entscheidenden Schlüsse ziehen lassen. Nach meiner Ansicht dürfte man sicher gehen, wenn man mit Ehret und Stolz behauptet, daß die Galle nicht stets steril ist, da Bakterien in dieselbe infolge einer Phlogose der Schleimhaut der Gallengänge oder auf aufsteigendem Wege von dem Darm aus eindringen können oder durch das Blut dahin verschleppt werden. Diese und viele andere Bedingungen, wie Stauung des Gallenabflusses, Aenderung der chemischen Zusammensetzung der Galle usw. müßten von Fall zu Fall eine sorgfältige Beachtung erfahren, und nur so dürften wohl die Meinungsverschiedenheiten ausgeschieden werden können.

Die vorliegenden Untersuchungen indes sind einzig und allein auf das Studium der Gallenbakteriolyse in vitro gerichtet. Der erste, der sich damit beschäftigte, war Bernabei, doch wurden seine Untersuchungen verschiedenartig gedeutet, da fast alle, anstatt zu dem Original zu greifen, sich an das Referat derselben im Centralbl. f. Bakt. hielten. Während in der Tat die Arbeit von Dr. Bernabei Corrado ist (der Vorname nachgesetzt), wird sie irrtümlicherweise von der obenerwähnten Zeitschrift Corrado, B., zugeschrieben. Er wird so von allen „Corrado“ und von einigen auch Bernabei und Corrado zitiert. Das Referat des Centralblattes beschränkt sich auf die bloßen Schlußfolgerungen einer sehr komplexen Arbeit und kann deshalb nicht von sämtlichen Resultaten der zahlreichen Versuche eine treue Wiedergabe liefern. Die Arbeit Bernabeis zerfällt in 4 Teile, von denen nur die zwei ersten und von diesen wieder der zweite (Wirkung der pathogenen Keime auf die Galle) mehr als der erste (Uebergang der pathogenen Keime in die Galle) unser Argument interessieren können. In letzterem Teil bewies er in der Tat, daß der *Pneumococcus*, der Milzbrandbacillus, der Bacillus der Büffelseuche, der Rotzkrankheit und der Friedländersche Pneumobacillus nicht in die Galle übergehen, wenn die Infektion einen raschen Verlauf besitzt, und in sie übergehen, wenn der Verlauf der Infektion ein langsamer ist mit Ausnahme des *Pneumococcus*, welcher in 23 Versuchen niemals mit Sicherheit in der Galle nachgewiesen worden ist, weder mikroskopisch noch bakteriologisch, und bei Einimpfung der Galle der an Pneumokokkenseptikämie gestorbenen Tiere in Ratten wurden stets negative Resultate erhalten, insofern die Tiere niemals an Pneumokokkenseptikämie starben. Nach diesem Resultate ist es demnach, wenngleich dies Bernabei nicht bemerkt, evident, daß die Galle eine lytische Wirkung auf den *Pneumococcus* besitzt. Diese Vorstellung findet in dem Studium der Wirkung der Galle auf pathogene Keime eine weitere Bestätigung. In diesem zweiten Teil wurden außer den oben erwähnten Bakterien auch der Typhusbacillus und der *Staphylococcus aureus* einer Untersuchung unterzogen. Bernabei fand, daß die Galle nicht die Entwicklung des Bacillus des Milzbrandes, der Büffelseuche, der Rotzkrankheit, des

Friedländerschen Pneumobacillus, des Typhusbacillus und des *Staphylococcus aureus* hemmte. Die Virulenz untersuchte er nur bei dem Bacillus der Büffelseuche und dem Milzbrandbacillus, und fand sie nur wenig abgeschwächt. Der von Fornet berichtete Widerspruch, „nach Macfadyen und Leuboscher entwickelt sich der Milzbrandbacillus in Galle ungehindert, während Corrado und Fischer eine deutliche Bakterizidie beobachtet zu haben glauben“, besteht demnach, wenigstens was die Arbeit von Corrado Bernabei angeht, nicht, indem Abschwächung und Bakteriolyse zwei verschiedene Dinge sind¹⁾.

Was den *Pneumococcus* anbelangt, so liegen die Dinge ganz anders, als von Berger behauptet worden ist. Berger drückt sich in der Tat folgendermaßen aus: „Corrado hat konstatieren können, daß die Galle für die Entwicklung des Milzbrandes ungünstig ist, die Entwicklung der Bacillen der Rotzkrankheit fördert und für die Entwicklung des Typhusbacillus und der Pneumonie indifferent ist“. Abgesehen davon, daß Berger in denselben Fehler in bezug auf den Milzbrandbacillus verfällt, so hätte er, wenn er die Arbeit im Original gelesen hätte, gesehen, daß die Galle alles andere als indifferent für den Bacillus der Pneumonie ist und unter dem Licht der Untersuchungen Fornets gewisse scheinbare Widersprüche eine sehr gute Erklärung finden können. Bernabei prüfte in der Tat, anstatt Bouillonkulturen zu verwenden, die Wirkung der Galle auf Pneumokokkensputum, auf den Milzsaft mit Pneumokokkämie infizierter Kaninchen, auf den Darminhalt von mit dem nämlichen Mikroorganismus infizierten Kaninchen.

Was die Wirkung der Galle auf den Darmsaft und die Emulsion des Milzextraktes angeht, so starben die geimpften Tiere mit großem zeitlichen Unterschied von den Kontrolltieren (resp. 126 und 146 Stunden). Doch starben sie ohne irgendwelches charakteristisches Merkmal der Pneumokokkenseptikämie. Man muß daher annehmen, daß der Tod durch eine andere Ursache und nicht durch den *Pneumococcus* hervorgerufen war, und man kann nicht umhin, die bakteriolytische Wirkung auf den Fränkelschen Mikroorganismus zuzugeben.

Was das Expektorat bei der Pneumonie angeht, so wurde dieses mit Galle gemischt und nach 6 Stunden des Kontakts eingeimpft. Das Tier starb in 113 Stunden, während das Kontrolltier in 60 Stunden starb, und zwar beide an Pneumokokkenseptikämie. Es muß jedoch bemerkt werden, daß das Pneumonieexpektorat Schleim enthält, dick ist und schwierig sich homogen machen läßt. Wir stehen also vor jener besonderen Bedingung, die übrigens von Bernabei selbst nicht übersehen wird, wenn er sagt: „Der Schleim scheint das Virus vor dem unmittelbaren Kontakt der Säfte schützen zu können, welche ihn abtöten oder seine Virulenz paralysieren können, wie es für die Galle der Fall zu sein scheint. In der Tat verlor der nicht weniger als das Sputum pneumokokkenreiche Milzsaft unter der Wirkung der Galle seine ganze Virulenz, während das Sputum dadurch nur abgeschwächt wurde, so daß der Tod des Tieres nur eine Verzögerung erfuhr.“ Fornet bewies experimentell dieselbe Anschauung, daß die albuminoiden und schleimigen Substanzen der Galle die bakteriolytische Wirkung auf die Mikroorganismen hemmen.

Miyake beobachtete ebenfalls, daß die Galle kein guter Kulturboden für den *Streptococcus* und den *Bac. prodigiosus* war,

1) Die von Fornet zitierte Arbeit Fischers habe ich nicht im Original einsehen können.

während der Coli-Bacillus und der Typhusbacillus sich gut entwickelten. Létienne beobachtete Entwicklung des Coli-Bacillus und des Staph. aureus in der Galle, und Neufeld endlich konstatierte, daß bei Vermischung eines Teiles Kaninchengalle mit 20 Teilen Fränkelscher Diplokokkenbouillonkultur und darauffolgendem Schütteln in verschiedenen langer Zeit von 3—20 Minuten die vollständige Zerstörung des Keimes erhalten und die Flüssigkeit klar wird. Verschiedene Stämme von Pneumokokken verhielten sich alle in der gleichen Weise, während eine derartige bakteriolytische Wirkung bei dem B. coli, dem Pyocyaneus, Staphylococcus, einigen Bacillen der hämorrhagischen Septikämie, dem Choleravibrio, dem Milzbrandbacillus, dem Diphtherie- und Dysenteriebacillus und bei einigen Streptokokkenvarietäten ausblieb. Die Erscheinung soll nach Neufeld ausschließlich für den Fränkelschen Diplococcus charakteristisch sein, ja die Bouillonkulturgallenflüssigkeit, in der die Bakteriolyse erfolgt war, zeigte sich mit Impfeigenschaften gegen denselben Pneumococcus ausgestattet.

Die Versuche Neufelds wurden durch Cantani bestätigt, welcher die bakteriolytische Wirkung der Galle auf den Fränkelschen Pneumococcus annahm, sie dagegen für den Typhusbacillus, den Coli-Bacillus, den Staphylococcus aureus und albus, den Milzbrand-, Diphtherie-, Influenzabacillus und den Streptococcus in Abrede stellte.

Berger, der das Argument wieder aufnahm, wollte die bakteriolytische Wirkung der Galle auf verschiedene Diplokokkenstämme untersuchen, und kam nach zahlreichen Versuchen zu dem Schluß, daß die Rindergalle wie diejenige der übrigen Tiere ein bakteriolytisches Vermögen auf den Pneumococcus besitzt, ausnahmsweise jedoch sich diese Wirkung auf einige Diplokokken nicht geltend macht, und auf den Fränkelschen Diplococcus die bakteriolytische Wirkung keine konstante ist. Er experimentierte mit verschiedenen Pneumokokkenarten, welche er A, B, C, D, E, F nannte. Von diesen empfand die Art D nicht die Wirkung der Galle, doch hatte er sie bereits von dem Fränkelschen Typus ausgeschlossen; die Arten B, C, E verhalten sich, was die Bakterienauflösung angeht, sämtlich in der von Neufeld beschriebenen Weise. Die Arten A und F, deren erstere als typische Fränkelsche Diplokokkenart erkannt wurde, reagierten nicht in konstanter Weise, insofern als zwar makroskopisch die Erscheinung der Bakteriolyse wahrgenommen und in einigen Präparaten nach 24 Stunden nur noch die Anwesenheit einiger seltener Bakterienelemente angetroffen wurde, doch aber die Einimpfung der Bouillongallenflüssigkeit öfters den Tod des Tieres hervorrief (in 20 Fällen auf 31 bei der Art A, 14mal mit bei der Autopsie festgestellter Septikämie; bei der Art F 5mal auf 8; 4mal mit bei der Autopsie festgestellter Septikämie).

Zu bedauern ist, daß die Autopsie nicht konstant ausgeführt wurde, wodurch der Zweifel bestehen bleibt, daß immer der Exitus letalis des Tieres einer Diplokokkeninfektion zuzuschreiben ist. Außerdem ist noch einzuwerfen, daß es sich bei den oben angegebenen Todesfällen häufig um Bouillonasciteskulturen oder septikämisches Blut mit Zusatz von Galle handelte, alles Bedingungen, die vielleicht den Ausgang des Versuches beeinflussen können. Uebrigens könnten wir uns nicht klar machen, warum ein- und derselbe Diplococcus bald die Wirkung der Gallenbakteriolyse empfinden, bald sich refraktär dagegen verhalten sollte, wenn man die Versuchsbedingungen immer als identisch betrachten will. Meiner Ansicht nach ist der Schluß Bergers, daß die bakteriolytische Wirkung

auf den Fränkelschen *Diplococcus* keine konstante ist, nicht annehmbar und mit der größten Reserve aufzuführen, um so mehr als weitere Arbeiten, wie die von Nicolle und Adis-Bey, Levy, Mandelbaum, Grixoni unbestreitbar die Erscheinung der Pneumokokkenauflösung bestätigten, ja Nicolle und Adis-Bey nachwiesen, daß die Gallensäuren in Form von Natriumsalzen diejenigen waren, denen die Bakteriolyse zufiel, welche bei Anwesenheit von Erdalkaliensalzen (vorzugsweise Magnesiumsalzen) noch gesteigert wurde.

Schultze fand, daß die Galle bakterizid und nicht bakteriolytisch auf die Streptokokken wirkte, bei denen Mandelbaum zu den nämlichen Schlüssen kam, wenn man die „*Mucosus*“-Varietät ausnimmt, für welche die bakteriolytische Wirkung außer durch Mandelbaum auch durch Levy angetroffen wurde.

Fornet nimmt in der Galle ein Hemmungsvermögen für die Entwicklung des Typhus an, rechtfertigt aber die gegenteiligen Versuche der vorausgehenden Autoren, indem er auf experimenteller Grundlage festlegt, daß einerseits der Qualität und Quantität der Galle, andererseits der Zahl der ausgesäten Bakterien Rechnung getragen werden muß. Er hebt hervor, daß dieses Hemmungsvermögen durch Kochen der Galle nicht abnahm, während es durch die albuminoiden Substanzen beeinflusst wurde.

Bis hierher lassen sich also die anscheinend zwischen den verschiedenen Untersuchern bestehenden Meinungsverschiedenheiten sehr wohl erklären, und im Grunde sind alle in der Annahme einer starken bakteriolytischen Wirkung der Galle auf den *Pneumococcus* und einer schwächeren auf den *Streptococcus mucosus* einig. Diese Erscheinung soll bei keinem anderen Bakterium angetroffen werden, ausgenommen bei dem Typhusbacillus (Fornet), wenn er in sehr geringer Menge ausgesät wird.

Neuerdings hat Fontana (anscheinend) die Disharmonie in dem oben gezogenen Schluß, namentlich was die Wirkung der Galle auf den *Streptococcus* und *Diplococcus* angeht, hervorgehoben. Wie gewöhnlich jedoch beseitigt die genaue Durchsicht der Arbeit jeden Zweifel, und ich bin gewiß, daß, wenn Grixoni die Arbeit Fontanas gelesen hätte und tiefer in sie eingedrungen wäre, er es sich erspart hätte, die Versuche Neufelds nachzuprüfen und dadurch mehr Zeit für seine eigenen Versuche gewonnen hätte.

Fontana nimmt sich die Untersuchung der Wirkung der Gallensalze auf den Typhus, *B. coli*, *Diplococcus* und *Streptococcus* vor und verwendet zwei Stämme für jede Art. In seinem ersten Schlußsatz heißt es: „Das Natriumtaurocholat und -glykocholat erhöhen, in der Dosis selbst von 10 Proz. den Nährböden zugesetzt, die Entwicklung und Lebensfähigkeit des Typhusbacillus und des *Coli-Bacillus*, ja diese Förderung ist eine um so kräftigere, je höher die Dose der Gallensalze ist.“

Doch ist er nie über die Dosis von 10 Proz. Gallensalzen hinausgegangen. Auf die Vitalität schließt er nur ein einziges Mal aus der Untersuchung auf die Bewegung im hängenden Tropfen, die mit Natriumglykocholat (Versuch A No. 2) ausgeprägter sein soll, während sie durch Natriumtaurocholat (Versuch A No. 1) verzögert würde. Bei allen übrigen Versuchen ist dieses banale Kriterium nicht beobachtet worden, um vielmehr dem der Form zu folgen, welche stets normal(!) gefunden wurde.

Die Steigerung der Entwicklung wurde sodann aus dem Trübungs-kontrast zwischen den Kontrollreagensgläsern und den Bouillon-Galle

enthaltenden und der Dicke des oberflächlichen Häutchens abgeleitet. Wie man sieht, sind die befolgten Kriterien absolut unzureichend und berechtigen nicht zu dem oben erwähnten Schluß, auch wenn derselbe wahr sein sollte.

Der zweite Schlußsatz lautet: „Das Natriumtaurocholat und -glykocholat inhibieren, in der Dosis von 3 Proz. den Nährböden zugesetzt, etwas die Entwicklung und Vitalität des *Diplococcus*, inhibieren in höherem Grad die Vitalität des *Streptococcus*, ohne doch dessen Entwicklung gänzlich anzuhalten; in der Dosis von 5—7 Proz. halten sie diese Entwicklung gänzlich an, sowohl in bezug auf den *Diplococcus* als in bezug auf den *Streptococcus*, ohne irgend einen Unterschied hinsichtlich der beiden Mikrobenarten.“

Fontana verwendet Stämme, deren Virulenz man nicht kennt, denn nur bei dem *Streptococcus* läßt er uns wissen, daß er höchst virulent war, so daß er den Tod in 48 Stunden hervorrief, über die tödliche Mindestdosis aber schweigt er.

Dann ist es auch seltsam, daß er mit einem *Diplococcus* zu tun hat, welcher die Eigenschaft besitzt, auch in den gewöhnlichen Kulturböden eine Kapsel zu besitzen. Unter 5 Versuchen trifft er bei 3 mit Gallensalzen im Verhältnis von 3 Proz. einige seltene Diplokokken in den Gram-Präparaten an und auf die gleiche Anzahl von Versuchen mit dem *Streptococcus* findet er bei 4 bald seltene, bald häufige Kettchen.

Es ist daher der Schluß nicht zu verstehen, daß „die Salze der Gallensäuren die Entwicklung und Lebensfähigkeit des *Diplococcus* etwas inhibieren“, während er doch nur einige seltene Elemente antrifft, und „in höherem Grade die Lebensfähigkeit des *Streptococcus* inhibieren, ohne jedoch dessen Entwicklung anzuhalten“, während er doch in den meisten Fällen Mikroorganismen in den Präparaten angetroffen hat. Mir scheint die Inhibierung der Vitalität recht wenig mit dem Nichtanhalten der Entwicklung verträglich.

Ebensowenig ist Fontana zu endgültigen Schlüssen berechtigt, da er keine Einimpfungen in Tiere zwecks Feststellung vornimmt, ob jene seltenen Diplokokken und Streptokokken eine Schädigung in ihren biologischen Funktionen durch die Einwirkung der Gallensalze erfahren hatten oder nicht.

Bei der Dosis von 5—7 Proz. findet er in einem einzigen Fall bei Einwirkung des Natriumglykocholats auf den *Streptococcus* (Versuch O No. 16) einige seltene Kettchen, im übrigen wurde nie Entwicklung erhalten, die Einimpfung in Tiere ist hier stets negativ.

In dem dritten Schlußsatz heißt es: „Diese Resultate stehen, was den *Pneumococcus* und *Streptococcus* angeht, im Gegensatz zu denjenigen Nicolles und Adis-Beys, indem bei einer Dosis über 3 Proz. die Gallensäuren die Vitalität beider Mikrobenarten inhibieren, bei einer Dosis unter 3 Proz. oder bei der Dosis von 3 Proz. stärker die Vitalität des *Streptococcus* als des *Pneumococcus* inhibieren“,

Nach dem oben Gesagten ist letztere Schlußfolgerung nicht das getreue Abbild der Versuche, insofern Fontana zunächst nicht sagen dürfte bei einer Dosis über 3 Proz., sondern bei einer Dosis von 5, 7, 10 Proz., und er auch nicht von Dosen unter 3 Proz. sprechen dürfte, da er sie nicht angewendet hat, und bei der Dosis von 3 Proz., wie ich gesagt habe, die Salze der Gallensäuren vielmehr, nach seinen Ver-

suchen, stärker die Vitalität des *Pneumococcus* als die des *Streptococcus* inhibieren. Es ist dies ganz das Gegenteil von dem, was Verf. schreibt. Die ganze Abweichung zwischen Fontana und Nicolle würde sich also auf eine Frage der Dosierung beschränken. Doch ist auch hier zu beobachten, daß Fontana nichts über die Behandlungsweisen aussagt, denen er die Gallensalze vor ihrer Benutzung unterzog, und uns kein hinreichendes Merkmal für die Identifizierung seiner Mikroorganismen angibt, indem er sich mit der Angabe begnügt, daß das morphologische Aussehen des *Streptococcus* das des „*Streptococcus longus*“ und des *Diplococcus* dasjenige von Elementen in Form von „isolierten Kokken oder kettenartig angeordneten Kokken, in letzterem Fall den *Streptococcus* vortäuschend“. Wir wissen nun, daß Neufeld auf eine *Diplokokken*art traf, welche keine Auflösung durch die Galle erlitt, und daß Berger über den Fall eines *Diplococcus* (Art D) berichtet, der, nicht dem Fränkelschen Typus angehörend, die Wirkung der Bakteriolyse nicht erlitt; daß *Streptokokken* vorkommen, wie der *Mucosus* (Mandelbaum), welche die Gallenbakteriolyse verspüren, daß Schultze bakterizide, aber nicht bakteriolytische Wirkung der Galle auf den *Streptococcus* fand. Im ganzen genommen berechtigen mich der Gang der Versuche Fontanas, die Art und Weise, wie sie dargelegt werden, die Mängel, die in ihnen zu erkennen sind, dazu, sie gänzlich außer acht zu lassen. Auf diese Weise bleibt die Frage in dem oben angegebenen Sinne stehen, d. h. eine ausgesprochene elektiv bakteriolytische Wirkung der Galle oder der Salze der Gallensäuren macht sich nur auf den Fränkelschen *Diplococcus* geltend.

Bei meinen Versuchen war die Aufmerksamkeit auf eine Gruppe von Bakterien gerichtet, die dazu befähigt sind, ihre Wirkung im Darm zu entfalten und auf die daher eine Einwirkung der Galle wahrscheinlich war; nicht so sehr bakteriolytische Wirkung, denn alle sind sich darin einig, daß sie, wenigstens bei einigen derselben, auszuschließen ist, wenn auch stets die Frage nach der Quantität der Aussaat zu erheben sein wird, als wegen der möglichen Abschwächung der Virulenz oder des möglichen Freiwerdens von Impfstoffen durch beschränkte Bakterienauflösung, die nicht mit bloßem Auge erkannt werden kann und nur langsam eintritt.

Ich habe daher den *Typhusbacillus*, den *Coli-Bacillus*, den *Paratyphus A* und *B*, den *Aetrichschen Bacillus*, den *Gärtnerschen* und den *Shigaschen Dysenteriebacillus* verwendet. Alle diese Arten waren nach den morphologischen und biologischen Eigenschaften als typisch diagnostiziert und bestimmt worden. Bevor ich jedoch an diese Untersuchungen ging, habe ich sehen wollen, wie die Galle ihre Wirkung auf den Fränkelschen *Diplococcus* und den *Streptococcus* entfaltet, nicht in dem Wunsch, die Versuche Neufelds und Nicolles nachzuprüfen, sondern einfach um von zwei typischen Fällen auszugehen, und zwar der eine für Bakteriolyse, der andere für Resistenz gegen dieselbe, und eventuell die Zwischenstufen zwischen dem einen und anderen dieser Extreme schätzen zu können.

Obwohl die Resultate dieser Versuche nichts an dem ändern, was man in bezug auf den Fränkelschen *Diplococcus* und *Streptococcus* weiß, so möchte ich dieselben doch in extenso mitteilen, da sie nach meiner Ansicht noch beweisender sind, indem ich deren Technik, wie es mir scheint, durch eine Verbesserung abgeändert habe.

Bei meinen Versuchen verwendete ich stets sofort nach dem Schlachten des Tieres frisch extrahierte Rindergalle. Die Temperatur des Zimmers war die des Zimmers wie bei Neufeld.

Fränkelscher Diplococcus.

Tödliche Mindestdosis = $\frac{1}{10000}$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur; bei subkutaner Einimpfung in ein Kaninchen vom mittleren Gewicht von 1200 g tötet sie das Tier in 24 Stunden.

Auf diesen Diplococcus ist die bakteriolytische Wirkung der Galle recht offensichtlich: Ein 96 ccm Bouillonkultur mit einem Zusatz von 4 ccm klarer flüssiger Galle, die aseptisch aus der Gallenblase entnommen war, enthaltendes Kölbchen hellt sich in 15 Minuten nach 24—48 Stunden Kontakt auf; bei der mikroskopischen Untersuchung werden keine spezifischen Elemente angetroffen und die Einimpfung in Kulturboden bleibt steril und die Einimpfung von 10 ccm der Bouillongallenkulturmischung verursacht nicht den Tod des Tieres. Wir stehen also vor einer Kultur, welche sich wie diejenige Neufelds verhält. Ausgehend von der Vorstellung, daß die albuminoiden Substanzen, die Salze, die Extraktionsstoffe und die von den Bakterien selbst in der Bouillonkultur ausgearbeiteten toxischen Produkte die Wirkung der Galle auf den Diplococcus herabsetzen, resp. hemmen konnten, zentrifugierte ich 10 ccm 24-stündiger Bouillonkultur 1 Stunde lang (5000 Umdrehungen in der Minute). Das 3mal mit steriler physiologischer Lösung ausgewaschene Sediment wurde dann in 10 ccm destilliertem sterilen Wasser suspendiert, dem 0,4 ccm Galle zugesetzt wurden. Die Bakteriolyse trat prompt in 15 Minuten ein. Die Flüssigkeit wurde klar und die mikroskopische, kulturelle und biologische Untersuchung an Kaninchen zeigten mir, daß kein Diplococcus der auflösenden Wirkung der Galle widerstanden hatte.

Wir stehen also vor einer ca. 10mal verstärkten Wirkung, die dennoch mit dem nämlichen Determinismus wirkte, als wenn auf dieselbe Bakterien-dosis 4 ccm Galle einwirkten. Niemals wurde eine inkonstante Wirkung beobachtet. Es ist demnach die von mir ausgesprochene Vermutung berechtigt, daß die Ascitesbouillon, der Blutagar, die von Berger verwendet wurden, eine gewisse Bedeutung in der Unbeständigkeit der Resultate gehabt haben dürften, und es ist auch die Annahme berechtigt, daß, wenigstens bei dem Diplococcus, das bakteriolytische Vermögen der Galle vielleicht eine sehr hohe Grenze hat. Von der wie oben angegeben erhaltenen (H_2O 10 ccm + Galle ccm 0,4° + Zentrifugationsrückstand von 100 ccm 24-stündiger Bouillonkultur) klaren Bouillonkultur-gallenmischung impfte ich nach $\frac{1}{2}$ Stunde des Kontakts $\frac{1}{2}$ ccm dem Kaninchen ein. Es wurde keinerlei offensichtliche Erscheinung beobachtet, doch tötete nach 7 Tagen die Einimpfung von 50 tödlichen Dosen der ursprünglichen Kultur das Tier mit einer Verzögerung von 3—4 Tagen gegen das Kontrolltier. Wenn jedoch die Bouillonkultur-gallenmischung nach 1 Stunde des Kontaktes eingeimpft wurde, so zeigte die darauffolgende nach 7 Tagen vorgenommene Einimpfung von 50 tödlichen Dosen das Tier gegen den Diplococcus geimpft.

Offenbar beginnt demnach unter den von mir dargelegten Versuchsbedingungen eine sichere Impfwirkung bereits nach ca. 1 Stunde des Kontaktes aufzutreten.

Vielleicht wäre es von Nutzen, in diesem Sinne die Versuche Bergers mit den verschiedenen Diplokokkenstämmen zu wiederholen

und so durch sichere Daten festzustellen, ob die Erscheinung Neufelds ausschließlich dem Fränkelschen Diplococcus zukommt, oder wenigstens einen Anhaltspunkt für die Differentialdiagnose zwischen Diplo- und Streptococcus bilden kann.

Streptococcus.

Tödliche Mindestdosis $\frac{1}{500}$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur; subkutan eingeimpft tötet sie ein Kaninchen vom Durchschnittsgewicht von 1200 g in 24 Stunden.

Die Versuche wurden mit der gleichen oben für den Diplococcus beschriebenen Modalität wiederholt. D. h. zunächst wurde festgestellt, daß die Galle bei dem von mir benutzten Streptococcus keine Bakteriolyse hervorrief; die mikroskopischen Präparate, die Ueerpflanzungen in Bouillon und die Einimpfungen in Tiere waren stets positiv, und zwar wurden letztere durch die Autopsie bestätigt. Es wurde nur eine Verzögerung des Todes um 2 Tage gegenüber dem Kontrolltier erzielt, selbst wenn der Bouillonkulturgallenkontakt auf 24 Stunden ausgedehnt wurde. Die gleichen Resultate wurden mit zentrifugierten und ausgewaschenen Kulturen erhalten. Die Galle ist demnach allerdings imstande, die Virulenz des Streptococcus abzuschwächen, aber nicht dessen Auflösung hervorzurufen.

Typhusbacillus, B. coli, Paratyphus A und B, Aetrickscher, Gärtnerscher, Shigascher Bacillus.

Tödliche Mindestdosis eine Normalöse 24-stündiger Agarkultur; dieselbe tötet ein Meerschweinchen vom mittleren Gewicht von 300 g in 24—48 Stunden.

Die bakteriolytische Wirkung der Galle auf diese Bakterien ist von allen unterschiedslos fast gleich Null gefunden worden. Und wenn ich durch das Verhalten des Typhusbacillus per analogiam dazu geführt wurde, die Wirkung der Galle auf die übrigen oben erwähnten Bakterien als analog zu betrachten, so mußte ich nach den Versuchen Fornets annehmen, daß auch diese geringe auflösende Wirkung der Galle der Aussaat, oder, was gleichbedeutend ist, der Menge der Galle untergeordnet sein mußte.

Unter Vermeidung der Methode der Koloniezählung, welche unsicher sein kann und eventuell durch eine geringe Verminderung der Anzahl der Kolonien keine genaue Vorstellung geben kann, bediente ich mich folgender Technik: Ich stellte einen Agar mit 4 Proz. Gallengehalt her, ließ ihn klarinettenschnabelförmig fest werden und machte darin einen ganz leichten Ausstrich, andere Kontrollröhrchen mit einfachem Agar besäte ich in der gleichen Weise. Nach 12—24 Stunden beobachtete ich in beiden Reagensgläsern für jede Art fast stets dieselbe Anzahl von gut isolierten Kolonien, welche, allmählich heranwachsend, dann schließlich nach wenigen Tagen einen gleichförmigen Belag bildeten. Niemals beobachtete ich wahrnehmbare und bemerkenswerte Unterschiede. Auf diese Weise jedoch hatte ich einen anderen Zweck im Auge: Wenn, indem ich die Bakterien nötigte, auf einem Substrat zu leben, das eine zum wenigsten für ihre Ernährung nicht gewohnte Substanz gleichförmig in dem Kulturmittel verteilt enthielt, diese Substanz (Galle) imstande war, in irgendeiner Weise die Funktionen der von mir untersuchten Bakterien zu modifizieren, so mußte diese Modifikation bei Fortdauern der Ursache während der ganzen Dauer des Versuches aus-

geprägter und evidenter sein. Und meine Vermutungen schlugen nicht fehl, denn obwohl keinerlei offensichtliche Veränderung in der Farbe des Substrates und in den morphologischen Eigenschaften der einzelnen untersuchten Species zu bemerken war, so zeigte sich doch bei Einimpfung eine entschiedene Verzögerung in dem Tode einiger Tiere und sogar das Ueberleben anderer. Wenn also auch die Galle nicht bakteriolytisch wirkt, so schwächt sie doch wenigstens die von mir untersuchten Bakterien mehr oder weniger ab. Zur besseren Verständlichmachung der ausgeführten Versuche fasse ich in folgender Tabelle zusammen:

Intraperitoneale Einimpfung einer Normallöse einer 24-stündigen Kultur		
	in gewöhl. Agar	in 4-proz. Gallenagar
Typhus	† in 24 Stunden	† nach 3 Tagen
Paratyphus A	† „ 48 „	lebt
 B	† „ 48 „	„
B. coli	† „ 48 „	„
Shigascher B.	† „ 48 „	† nach 5 Tagen
Gärtnerscher B.	† „ 72 „	lebt
Aetrichscher B.	† „ 72 „	„

Daraufhin habe ich sehen wollen, ob die Galle bei Einwirkung auf die oben erwähnten Bacillen auf irgendeine Weise, die Bakteriolyse nicht ausgeschlossen, den Austritt von Impfstoffen hervorrufen könnte, ähnlich dem, was bei dem *Diplococcus* eintrat.

Ich nahm eine ganz spärliche Aussaat in Bouillon mit 10-proz. Gallengehalt vor, in der Hoffnung, daß das Maximum der auflösenden Wirkung auf die ausgesäten Bakterien erhalten und diese dann mehr oder weniger intensiv auf die jungen Formen in dem Maße, wie diese aus den Ueberlebenden entstanden, weiter ausgeübt würde. Doch bereits nach 24 Stunden war ein Geruch nach Schwefelwasserstoff wahrzunehmen, welcher in den folgenden Tagen vielleicht, ja fast sicher, durch einen Zersetzungsprozeß der Galle selbst stärker wurde. Ich beschloß nun, ein Kölbchen mit 50 ccm Bouillonkultur zu zentrifugieren. Das mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschene und durch destilliertes Wasser mit Zusatz von 5 ccm Galle auf 45 ccm gebrachte Bakterien-sediment gab mir eine 10-proz. gallenhaltige Flüssigkeit. Diese wurde öfters geschüttelt und an einem dunklen und kühlen Ort 3 Tage lang aufbewahrt. Als sie sich nach dieser Zeit nicht aufgehellt hatte, zentrifugierte ich nicht aus Furcht, daß einige in der Flüssigkeit vorhandene Keime den Tod des Tieres hätten hervorrufen können. Ich filtrierte daher durch das Berkefeldsche Filter, vergewisserte mich jedesmal durch die kulturelle Probe über die Sterilität des Filtrates und impfte dieses in der Dosis von 1 ccm in das Cavum peritonei von Meerschweinchen vom Durchschnittsgewicht von 300 g ein. Eine ähnliche Einimpfung wurde mit der gleichen Dosis an 3 aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt, ohne daß die Tiere Gewichtsabnahme oder Fieber zeigten. Im allgemeinen überlebten die Meerschweinchen alle bis auf das mit Gallenflüssigkeit der Coli-Bacillenkultur geimpfte, welches 5 Tage nach der letzten Impfung starb. Die Meerschweinchen, welche 7 Tage nach der letzten Impfung am Leben waren, erhielten jedes eine tödliche Mindestdosis der Kultur, gegen die sie geimpft worden waren, doch trat bei allen der Tod ein.

Es ist demnach evident, daß wenn auch die Galle in dem Sinne wirkt, daß sie bei den von mir in Betracht gezogenen Species eine leichte Bakteriolyse hervorruft, wie auch von anderer Seite nachgewiesen worden ist, doch dabei keine speziellen Impfstoffe in die umgebende Flüssigkeit übergehen.

II. Antitoxische Wirkung der Galle.

Charrin und Roger nehmen ein antitoxisches Vermögen der Galle an, weil sie beobachtet haben, daß die Erscheinungen der Auto-intoxikation ausgesprochen sind und leichter eintreten, wenn die Gallensekretion gehemmt ist. Veillard-Baron beobachtete, daß die Galle keine wahrnehmbare Wirkung auf die Toxine des *Streptococcus albus* und des *B. coli* besitzt. Vincent hat beobachtet, daß die menschliche Galle und die verschiedener Tiere (Hund, Rind, Kaninchen, Meerschweinchen) antitoxische Eigenschaften gegenüber dem Tetanusgift besitzt: 1 ccm Galle neutralisiert 20–50 tödliche Toxindosen, zuweilen auch mehr, in $1\frac{1}{2}$ –2 Stunden bei 18° ; in 30 Minuten bei 38° ; in 15 Minuten bei 48° . Die Erhitzung der Galle auf 120° hat eine geringe Verminderung des antitoxischen Vermögens zur Folge.

Die Galle der an Tetanus gestorbenen Tiere, die des an akuten oder chronischen Krankheiten gestorbenen Menschen besitzen dieselben Eigenschaften, welche sich jedoch nicht am Lebenden geltend machen, insofern die Einimpfungen von Galle keinerlei kuratives oder präventives Vermögen haben.

Nach diesen Untersuchungen war die Frage naheliegend, ob das Diphtheriegift sich in bezug auf die Galle in analoger Weise verhielt? Zu dem Zwecke stellte ich ein Diphtheriegift her, welches das Meerschweinchen vom Durchschnittsgewicht von 250 g in 24 Stunden bei der Dosis von $\frac{1}{100}$ ccm tötete. Darauf mischte ich Galle im Verhältnis von 10 Proz. bei und prüfte in Abständen von 6, 12, 24 Stunden bei Zimmertemperatur die Toxizität der Mischung. Im allgemeinen fand ich eine starke Verminderung derselben, welche ihr Maximum nach 24 Stunden (äußerste Grenze meiner Versuche) erreicht.

Toxin und Galle im Verhältnis von 10 Proz.

	6 Stunden	12 Stunden	24 Stunden
$\frac{1}{100}$ ccm	† in 48 Stunden	—	—
$\frac{1}{50}$ "	id.	† in 72 Stunden	—
$\frac{1}{25}$ "	† in 24 Stunden	† " 72 "	lebt
$\frac{1}{10}$ "	—	† " 24 "	† in 72 Stunden
$\frac{1}{5}$ "	—	—	† " 248 "

Schlußfolgerungen.

Aus der Gesamtheit meiner Untersuchungen lassen sich meiner Ansicht nach folgende Schlüsse ziehen:

Die bakteriolytische Wirkung der Galle auf den Fränkelschen *Diplococcus* ist sicher eine stärkere, wenn sie auf den wiederholt mit physiologischer Lösung ausgewaschenen Mikroorganismus erfolgt; vielleicht begünstigt sie auch diese Behandlung in gewisser Weise. Die daraus resultierende Flüssigkeit besitzt hohes Impfvermögen.

Der *Streptococcus* wird in seiner Virulenz abgeschwächt, verspürt aber nicht die auflösende Wirkung der Galle.

Die Kulturen vom Typhusbacillus, Paratyphus A und B, B. coli, Shigaschem, Aetrichschem, Gärtnerschem Bacillus, welche auf mit Galle im Verhältnis von 4 Proz. untermischtem Agar erhalten wurden, geben in ihrer Virulenz abgeschwächte Mikroorganismen. Von eben diesen ausgewaschenen und in Wasser mit 10 Proz. Galle suspendierten Mikroorganismen enthielten die mittels des Berkefeldschen Filters erhaltenen Filtrate (nach 3 Tagen) keinerlei Impfstoff.

Schließlich vermindert die Galle, in vitro mit Diphtheriegift gemischt, merklich dessen toxisches Vermögen je nach der Dauer des Kontaktes des Toxins und der Galle.

Literatur.

- D'Ambrosio, Giorn. internaz. d. sc. med. 1905.
 Ehret und Stolz, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 1900.
 Bernabei, Atti dell'Accad. med. di Roma. 1890—91.
 Miyake, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 1900.
 Létienne, Arch. de méd. expér. 1891.
 Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. 1900.
 Cantani, Sulla bile nelle infezioni e nelle immunizzazioni. Napoli 1903.
 Berger, Giorn. internaz. d. sc. med. 1905.
 Nicolle et Adis-Bey, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1907.
 Levy, Virchows Arch. 1907.
 Schultze, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Fornet, Zeitschr. f. Hyg. 1907.
 Grixoni, Rivista crit. di clin. med. 1909.
 Fontana, Il Tommasi. 1908.
 Charrin et Roger, Note sur l'action du foie sur les poisons. Paris 1887.
 Veillard-Baron, Thèse de Lyon. 1895.
 Vincent, Soc. de Biologie. 1907.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen über Händedesinfektion, speziell mit Dermagummit

[Aus der bakteriologischen Abteilung des städtischen allgemeinen
Krankenhauses Friedrichshain-Berlin.]

Von A. Wolff-Eisner.

Die umfangreichen ausgezeichneten Untersuchungen Döderleins, Sarweys und Pauls haben den Beweis erbracht, daß unsere Händedesinfektion ein unvollkommenes Ding ist; daß es trotz aller Mühe mit sämtlichen bisher vorhandenen Händedesinfektionsmethoden nicht gelingt, eine keimfreie Hand zu erzielen. Der Grund liegt voraussichtlich darin, daß die Schweiß- und Haarbalgdrüsen Bakterienreservoirs bilden, aus deren Tiefe immer von neuem Bakterien an die Oberfläche dringen, besonders wenn die Hand bei der Operation durch Körperflüssigkeiten oder im Verlauf des Versuchs durch Schweißbildung feucht wird und so die härtende und gerbende Wirkung des zur Desinfektion verwendeten Alkohols eliminiert wird.

Es wäre natürlich falsch, und ist auch von keiner Seite vorgeschlagen worden, wegen dieser Unvollkommenheit der zu erreichenden Desinfektion auf die Händedesinfektion überhaupt zu verzichten. In der Praxis hat

man überhaupt diese Versuche, welche die Unerreichbarkeit einer vollständigen Händedesinfektion erwiesen, im großen und ganzen nur als rein theoretische angesehen, und hat die Händedesinfektion nach den alten Regeln unbekümmert weitergeführt. Diese bakteriologischen Versuche haben wohl nicht einmal bewirkt, daß eine Sorglosigkeit in der Ausführung der Händedesinfektion Platz gegriffen hat.

Es ist aber auffällig, daß diese Feststellung (daß man doch keine Sterilität der Hände erzielen könne) nicht zu einer größeren Sorglosigkeit und Fatalismus geführt hat; was die Praxis vor einer solchen sonst recht naheliegenden Schlußfolgerung aus diesen Versuchen behütet hat, ist die täglich sich erneuernde Erfahrung, wie unsere Operationsresultate gegenüber der vorantiseptischen Zeit sich verbessert haben und wie eine weitere Besserung eingetreten ist, seit wir zur Asepsis und zu den heutigen Händedesinfektionsmethoden übergegangen sind. Eine Wirkung der Versuche der Döderleinschen Schule zeigt sich jedoch darin, daß man immer von neuem versucht, in der Frage der absolut vollendeten Händedesinfektion weiterzukommen. Denn wenn auch die heutigen Operationsresultate unbestreitbar gute sind, und zwar trotz der unvollkommenen Händedesinfektion offenbar aus dem Grunde, weil der Körper mit vereinzelt in ihn gelangenden Keimen fertig zu werden versteht — so ist dies doch von der Art der in ihn gelangenden Keime in sehr wesentlichem Maße abhängig und somit dem Zufall noch eine größere Rolle überlassen, als dem Operateur erwünscht ist. Denn stets ist es dem Operateur bei schweren Operationen ein unheimliches Gefühl, daß der schließliche Erfolg — resp. das Nichteintreten einer Infektion — in letzter Instanz trotz aller Fortschritte der Asepsis dem Zufall in die Hand gegeben ist.

Im Anschluß an die Döderleinschen Untersuchungen wurde ein großer Fortschritt erzielt, indem Döderlein selbst den Gebrauch der Gummihandschuhe einführte. Das auf diese Weise erzielte Ergebnis der Handsterilität ist in gewisser Weise nicht zu übertreffen. Ueber die nach allen Regeln aufs sorgfältigste desinfizierte Hand wurde der durch Auskochen oder Chemikalien steril gemachte Gummihandschuh gezogen und hierdurch ein absolut keimfreies Operieren, soweit die Hand des Operateurs in Betracht kommt, erzielt, ja, es war z. B. möglich, bei geburtshilflichen Operationen mit der mit einem Gummihandschuh versehenen Hand in das Rectum zu gehen und gleich danach den Handschuh auszuziehen und ohne jede Möglichkeit einer Infektion von der Vagina aus den Eingriff steril zu beenden. Ebenso war es möglich, septische Operationen durchzuführen und ohne Gefährdung der Patienten sterile Operationen, ja sogar Bauchoperationen anzuschließen, ein Vorteil, der weniger vielleicht für große Kliniken, als für in der Praxis stehende Aerzte und Chirurgen in Betracht kommt.

Während in mancher Beziehung die mit den Gummihandschuhen erzielten Resultate unübertreffbare sind, hafteten ihnen eine Reihe von Nachteilen an, welche ihren Gebrauch sehr einschränkten. Es sind dies folgende ihnen anhaftende Mißstände:

1) Der Gebrauch der Gummihandschuhe stellt sich sehr teuer, und zwar ganz besonders da, wo die Handschuhe nicht in täglicher Benutzung sind, wie meist beim Praktiker.

2) Der Gummihandschuh behindert während der Operation die Hautperspiration, ein bei längerer Benutzung sehr in Betracht kommender Uebelstand.

3) Der Gummihandschuh ist in mancher Beziehung eine Erschwerung der Operation, weil kompliziertere Präparierungen von der mit dem Gummihandschuh armierten Hand viel schwieriger vorgenommen werden können, und weil die Hautsensibilität, welche bei vielen Operationen ein unbedingtes Erfordernis ist, leidet. (Es sei übrigens bemerkt, daß beim geburtshilflichen Touchieren die Erkennung der Lagen durch den Gummihandschuh nicht sehr wesentlich gestört wird.)

Die Versuche, die Gummihandschuhe zu ersetzen, bestehen darin, die Hand mit einem Ueberzug zu versehen. Es sind hierzu die verschiedensten Mittel verwendet worden. Schleich versuchte, bei Verwendung seiner Marmorwachsseife die Hand mit einem Wachsüberzug zu versehen, Menge mit einer in Xylol gelösten Paraffinschicht, Haegeler mit einem Guttaperchaüberzug. Von den neuen Methoden sei der Chirosoter erwähnt, der im Prinzip ebenfalls darauf beruhen soll, daß über die Haut eine Wachsschicht gebracht wurde. Der Gebrauch von Kautschuklösungen hat das Mißliche, daß die Kautschukschicht sich durch Reiben wieder von der Hand entfernen läßt, und weiterhin Kautschuklösungen eine große Klebrigkeit besitzen. Durch Herstellung einer Verbindung von Jod und Kautschuk wollte Wederhake eine Hautbedeckung gefunden haben, welche alle die eben skizzierten Mißstände vermeidet, und eine derartige Lösung von Jod-Kautschuk, welche den Namen Dermagummit führt, wurde mir von der Fabrik Dr. Degen & Kuth in Düren im Rheinland zwecks Erstattung eines Gutachtens übergeben.

Das Präparat ist eine in Tetrachlorkohlenstoff gelöste Jod-Kautschuklösung. Nach der Gebrauchsanweisung soll man auf die desinfizierte Haut Jod-Kautschuklösung durch waschende Bewegungen auftragen, indem man besonders die Nagelgegend berücksichtigt. Die Lösung kommt in 2 Modifikationen in Handel, ungefärbt, und mit Sudan, dem bekannten Fettfarbstoff, gefärbt. Die Färbung ist an sich für die Verwendung des Präparats belanglos, trotzdem erscheinen mir die gefärbten Lösungen empfehlenswerter, weil die ungefärbte Lösung auf der Haut nicht zu sehen ist, und man daher nicht weiß, ob auch alle Stellen der Haut mit dem Ueberzug versehen worden sind, ob also nicht die durch den Ueberzug erzielte Asepsis der Haut eine Lücke hat, welche den Zweck des ganzen Verfahrens illusorisch macht. Meine Untersuchungen ergeben, daß es bei der Leichtflüssigkeit des Mediums ziemlicher Aufmerksamkeit bedarf, um zwischen den Fingern keine Stellen ohne Ueberzug zu lassen und namentlich die Nagelgegend in ausreichender Weise mit dem Ueberzug zu versehen.

Für die Verwendbarkeit des Dermagummits nehmen folgende Feststellungen zunächst im ersten Augenblick ein:

1) Daß ein Fettlösungsmittel verwendet ist (Tetrachlorkohlenstoff), das nicht feuergefährlich ist. Der Geruch des Tetrachlorkohlenstoffs ist nicht gerade angenehm, aber doch nicht so, daß durch ihn der Gebrauch der Lösung erschwert würde.

2) Weil die Dermagummitlösung in dünner Schicht fest an der Haut haftet, und durch Bewegungen der Hand, ja selbst durch schabende Bewegung nicht entfernt wird. Selbst der Einwirkung der Seife leistet die Dermagummitschicht einen gewissen Widerstand. Jedoch ist vor der Dermagummitanwendung darauf zu achten, daß die Haut nicht fett-haltig ist, da sonst der Dermagummitüberzug in keiner Weise haftet. Da auch das natürliche Hautfett diese Eigenschaft hat, so empfiehlt es sich (wie wir sehen werden, auch noch aus anderen Gründen), die Haut

vor der Anwendung der Dermagummitlösung mit einem in Alkohol getränkten Wattebausch abzureiben. In einem Versuche, in welchem wir, um recht mit Bakterien verunreinigte Arbeitshände zur Verfügung zu haben, mit unseren Händen wiederholt einen Ziegenbock angefaßt hatten, genügte das in den Haaren des Bocks enthaltene Wollfett vollkommen, um das Haften des Dermagummits auf der Hautoberfläche vollkommen unmöglich zu machen.

In weiteren Versuchen wurde festgestellt, daß Dermagummit eine so große Haftungsfähigkeit besitzt, daß es in dünnster Schicht auf einem polierten Glase haften bleibt, was natürlich den Schluß, der durch den Augenschein gewonnen wird, nahelegt, daß auf der viel weniger glatten Hautoberfläche das Haften ein noch viel festeres sein dürfte ¹⁾.

3) Weil bei der Verwendung des Dermagummits keine Apparate nötig sind und dieses im Gebrauch so billig ist, daß jeder praktische Arzt in der Lage ist, eventuell die nicht verderbende Flüssigkeit vorrätig zu halten und anzuwenden.

Es ist ein Vorzug des Dermagummits, daß es bei diesem Präparat gelungen ist, durch Jodbehandlung die Kautschuklösungen anhaftende Klebrigkeit sehr wesentlich herabzumindern. Doch ist sie nicht vollkommen beseitigt und kommt zum Vorschein, wenn man eine etwas dickere Schicht von Dermagummit auf die Hand bringt, oder auch dann, wenn die mit Dermagummit beschickte Hand feucht wird. Doch ist es allerdings möglich, durch Anwendung von Talkum die entstandene Klebrigkeit wenigstens für längere Zeit wieder vollkommen zu beseitigen. Die Firma Degen & Kuth hat zu diesem Zwecke eine aus rein Nickel bestehende Büchse anfertigen lassen, welche direkt auf die Flamme gesetzt werden kann und daher vollkommene Sterilität des Talkums garantiert ²⁾.

Die Hauptfrage, die ich mir zur Entscheidung vorlegte, ist, wie sich das Dermagummit als Ersatz einer Händedesinfektion bewährt, und zwar stelle ich die Frage in diesem Sinne, weil sich aus einer eindeutigen Entscheidung dieser Frage alle anderen in Betracht kommenden von selbst gelöst hätten. Ich untersuchte daher den Einfluß der Anwendung von Dermagummit auf die Keimzahl von Arbeitshänden, welche in keiner Weise vorbehandelt worden waren, weil ich aus Orientierungsversuchen ersah, daß bei desinfizierten Händen die Keimzahl gering ist und aus geringen Differenzen gezogene Schlußfolgerungen leicht zu Irrtümern hätten führen können. Diese Fragestellung schafft aber eine

1) Versieht man Filtrierpapier mit einer Dermagummitschicht, so verlangsamt die auf dem Filtrierpapier zurückbleibende Kautschukschicht das Filtrieren von Wasser, zeitlich und quantitativ, und zwar hängt der Effekt von der Maschendichte des verwendeten Filtrierpapiers ab. Es erklärt das Ergebnis dieses Versuches es wahrscheinlich, wieso es kommt, daß die dauernde Bedeckung der Hand mit Dermagummit in keiner Weise unangenehm ist, wahrscheinlich aus dem Grunde, weil die Dermagummitschicht die Transpiration nicht verhindert.

2) Jedoch ist bei der Talkumsterilisation auf folgendes zu achten:

Eine große Reihe von Dermagummitversuchen führte zu keinem Resultat, weil auf den mit den Dermagummithänden bestandenen Platten sich große Kolonien eines sporenhaltigen Bacillus bildeten, welche in flächenhaftem Wachstum die ganzen Platten überwucherten und eine Zählung der Kolonien unmöglich machten. Wie die angestellten Untersuchungen dann ergaben, stammten diese sporenhaltigen Bacillen aus dem Talkum, welches nur 3 Minuten lang der direkten Einwirkung eines Bunsenbrenners ausgesetzt war. Es genügten also 3 Minuten nicht, um solche im Talkum enthaltenen sporenhaltigen Bacillen abzutöten, und es muß die Talkumbüchse, um auch solche Bacillen abzutöten (wenn z. B. Talkum bei der Operation verwendet werden soll), mindestens 10 Minuten der Hitze ausgesetzt werden.

Reihe technischer Schwierigkeiten. Wenn man mit sterilen Händen die Dermagummitschicht auf die Arbeitshand auftrug, so war die auftragende Hand nicht mehr steril, wenn man auf die jetzt infizierte Dermagummitschicht eine zweite Schicht auftragen wollte. Ich ging daher in der Weise vor, daß ich die erste Dermagummitschicht von der nicht desinfizierten Hand der Versuchsperson selbst auftragen ließ, die zweite Dermagummitschicht mit der desinfizierten rechten Hand einer anderen Person, und die dritte Dermagummitschicht von der desinfizierten linken Hand der betreffenden zweiten Person, so daß sich unsere Versuche an Arbeitshänden auf eine dreifache Dermagummitschicht beziehen. Die zuerst versuchte Lösung dieser technischen Schwierigkeit, die Dermagummitschichten mit gewechselten sterilen Gummihandschuhen aufzubringen, war nicht gangbar, weil die Dermagummitschicht sich in dem Guttapercha löst und anstelle des Auftragens einer weiteren Dermagummitschicht beim Versuch des Auftragens ein Abreiben derselben eintrat.

Diese unsere Versuchsanordnung gibt daher ein Urteil über den Wert der Auftragung einer Dermagummitschicht zu Erhöhung der Händesterilität; sie beantwortet die Frage, ob es empfehlenswert ist, um bei Operationen, Sektionen etc. das Haften von Bakterien zu verhindern, seine Hände mit einer Dermagummitschicht zu beziehen und ob es schließlich genügt, in Notfällen die Händedesinfektion durch einen Dermagummitüberzug zu ersetzen, um eine schnell notwendig gewordene Operation vornehmen zu können.

Nach Anführung unserer Versuchsprotokolle werden wir auf diese Fragen im Zusammenhang zurückkommen: wegen der großen Zahl der von uns angestellten Versuche führen wir immer nur eine Reihe von besonders typischen Serien an.

Sterilität des Dermagummits.

Das Dermagummit befindet sich in einer Tropfflasche, die es gestattet, die Lösung im strömenden Dampf zu sterilisieren. Man stellt den Stopfen so ein, daß ein Tropfen möglich ist, so daß die sich entwickelnden Dämpfe Abfluß haben und nach der Sterilisierung dreht man den Glasstopfen zu.

In der Klinik wird man stets dies Verfahren anwenden; für den Praktiker hat es jedoch Interesse, zu wissen, ob die Lösung ohne Vorbehandlung steril ist.

Es wurde zu diesen Versuchen eine 4 und 6 Wochen ohne Kautelen aufgehobene Dermagummitlösung verwendet.

	Menge	Agar	verimpft auf		
			Bouillon	Glycerinagar	Serumagar
4 Wochen alte Dermagummitlösung	1 Tropfen	steril	steril	steril	steril
3 " "	3 "	"	"	"	"
6 Wochen alte Dermagummitlösung	1 "	"	"	"	"
3 " "	3 "	"	"	"	"

Das Dermagummit erwies sich also bei allen Versuchen steril, so daß der Praktiker es in eiligen Fällen ohne vorhergehende Sterilisation benutzen kann.

Als Ursache der Sterilität ergab sich bei weiteren Versuchen eine nicht unerhebliche bakterizide Kraft des Dermagummits.

Es wurden zur Prüfung der bakteriziden Kraft die gebräuchlichsten Testbakterien: Typhus, Coli, Staphylokokken, Streptokokken, Milzbrand und *Bacillus prodigiosus* in großer Menge (je eine Oese) in

20 Tropfen Dermagummit eingesät und nach einstündiger Einwirkung des Dermagummits eine Oese auf Agar oder in Bouillon verimpft. Der Versuch ergab folgendes Resultat:

Das mit Bakterien beimpfte Dermagummit	wird eingesät in der Menge von einer Oese in			
	Bouillon	Agar	Glycerinagar	Serumagar
mit Typhus	steril	steril	steril	steril
" Coli	"	"	"	"
" Staphylokokken	"	"	"	"
" Streptokokken	"	"	"	"
" Milzbrand	"	"	"	"
" Prodigiosus	"	"	"	"

Mit größeren Mengen des beimpften Dermagummits wurden folgende Resultate erzielt:

Es wurden 5 Oesen des mit den Bakterien beimpften Dermagummits in verflüssigten Agar gebracht, von dieser Verdünnung 1 Verdünnung 2 hergestellt, indem 5 Oesen von Verdünnung 1 in flüssigen Agar als Verdünnung 2 übergebracht wurden. Es wurden dann in üblicher Weise Platten ausgegossen.

Das mit Bakterien beimpfte Dermagummit		wird zu Platten gegossen s. o.	
		Ver- dünnung 1	Ver- dünnung 2
mit Typhus	1. Tag	2	0
	2. "	7—8	2
" Coli	1. "	0	0
	2. "	0	0
" Staphylokokken	1. "	9	5
	2. "	9	7
" Streptokokken	1. "	0	0
	2. "	0	0
" Milzbrand	1. "	0	0
	2. "	6	2
" Prodigiosus	1. "	2	0
	2. "	2	0

Kolonien der betroffenen
Bakterien

Staphylokokken erweisen sich auch hier, wie bei fast allen Desinfektionsversuchen, als die resistentesten Bakterien; auch ihnen gegenüber entfaltet das Dermagummit eine sehr starke bakterizide Kraft, da aus 5 Oesen nur 9 Kolonien aufwachsen. Besonders bemerkenswert ist die bakterizide Kraft des Dermagummits gegenüber Milzbrandsporen, die wahrscheinlich durch die fettlösende Kraft des Präparats bedingt ist. Es kommen bei der Verwendung des Dermagummits diese erheblichen bakteriziden Kräfte in sehr wesentlicher Weise in Betracht.

Versuch zur Prüfung der Dermagummitwirkung.

Versuchsperson: Dr. W.

		Arbeitshand				Dermagummithand			
		0,1	0,5	1,0	Zahnstocher	0,1	0,5	1,0	Zahnstocher
Innenseite	nach 24 Stunden	65	200	600	32	6	8	3	9*
" 72 "	"	100	400	850	100	2	7	7	9*
" 96 "	"	100	400	850	110*	6	16	20	9*
" 120 "	"	—	—	—	—	6	16	20	10*
Außenseite	nach 24 Stunden	63	292	480	—	1	3	4	6
" 72 "	"	94	440	480	—	1	4	6	12
" 96 "	"	100	440	480	—	2	6	12	1*
" 120 "	"	—	—	—	—	2	11	15	2*

19*

NB. Versuchsanordnung. Es wird auf die Hände sterile Kochsalzlösung gebracht und die Hand mit sterilen Zahnstochern abgerieben. Von der auf diese Weise gewonnenen Flüssigkeit wird 0,1, 0,3 und 0,5 ccm zu Platten ausgegossen, ebenso wird der Zahnstocher selbst zu Platten verarbeitet.

Versuchsperson: Frl. Fl.

		Arbeitshand			Dermagummithand		
		1 Tropfen	3	5	0,1	0,3	0,5
Innenseite	nach 24 Stunden	60	120	250	1	3	8
" 48 "	"	57	240	320	4	5	31
Außenseite					3 Tropf. 4 Tropf.		
nach 24 Stunden		57	150	600	5	21	70
" 48 "	"	134	600	∞	30	44	180
Innenseite	nach 24 Stunden	0,1	0,3	0,5	0,1	0,3	0,5
" 48 "	"	4*	10*	16*	2	30	0
" 72 "	"	8*	15*	32*	10	23	0
" 96 "	"	10*	24*	45*	14	28	0
Innenseite	nach 24 Stunden	70	420	—	2	1	4
" 48 "	"	—	—	—	—	—	—
" 72 "	"	77	300	—	6	8	14
Innenseite	nach 24 Stunden	36	65	—	—	5	—
" 48 "	"	115	280	—	6	8	—
" 72 "	"	—	—	—	—	—	—
" 96 "	"	200	300	—	8	11	—
		Arbeitshand			Dermagummithand		
		0,1	0,5	1,0 Zahnstocher	0,1	0,5	1,0 Zahnstocher
Innenseite	nach 24 Stunden	0	0	0	1	6	8
" 48 "	"	1	6	8	—	—	—
" 72 "	"	1	7	10	1	10	20
" 96 "	"	2	21	22	1	10	18
" 120 "	"	6	21	26	—	—	—
Außenseite							
nach 24 Stunden		0	0	0	0	0	0
" 48 "	"	0	4	11	—	—	—
" 72 "	"	0	3	19	0	0	0
" 96 "	"	1	3	33	0	0	0
" 120 "	"	1	4	37	—	—	—

dito (2. Kontrolle).

		Arbeitshand			Dermagummithand		
		0,1	0,3	0,5 ccm	0,1	0,3	0,5 ccm
Innenseite	nach 24 Stunden	1	40	280	4	8	15
" 48 "	"	7	100	280	6	15	29
" 72 "	"	9	150	280	10	20	35
Außenseite							
nach 24 Stunden		—	—	—	—	—	—
" 48 "	"	viel	viel	viel	viel	viel	viel
" 72 "	"	viel	40	100	—	—	—
" 96 "	"	200	160	—	—	—	—

Versuchsperson: Dr. W.

		Arbeitshand			Dermagummithand		
		0,1	0,3	0,5 ccm	0,1	0,3	0,5 ccm
Innenseite	nach 24 Stunden	1	40	280	4	8	15
" 48 "	"	7	100	280	6	15	29
" 72 "	"	9	150	280	10	20	35
Außenseite							
nach 24 Stunden		200	612	1010	1	6	9
" 48 "	"	—	—	—	—	—	—
" 72 "	"	360	599	1080	10	46	32

	Arbeitshand			Dermagummithand		
Innenseite						
nach 24 Stunden	95	320	—	1	1	—
" 48 "	1200	∞	—	8	17	—
Innenseite						
nach 24 Stunden	16	44	74	2	0	0
" 48 "	42	90	100	2	0	9
" 72 "	60	90	124	1	0	9

Versuchsperson: FrL Fl.

	Arbeitshand			Dermagummithand		
	0,1	0,3	0,5 ccm	0,1	0,3	0,5 ccm
nach 24 Stunden	8	4	7	0	0	1
" 48 "	11	10	30	0	0	5
" 72 "	12	12	35	9	0	5

Versuch an desinfizierter Hand.

Die Hand wurde in üblicher Weise desinfiziert: Wasser und Seife, Alkohol, Sublimat, steriles Wasser und dann in gleicher Weise an dieser sowie an der mit Dermagummit versehenen Hand die Aussaat vorgenommen.

	Kontrollhand			Dermagummithand		
	0,1	0,3	0,5 ccm	0,1	0,3	0,5 ccm
nach 24 Stunden	1	16	7	1	2	—
" 48 "	2	20	11	2	4	—
" 72 "	11	10	30	2	12	—
" 96 "	20	14	40	2	30	—

Versuchsperson: Wern.

	Arbeitshand			Dermagummithand		
	0,1	0,3	0,5 ccm	0,1	0,3	0,5 ccm
Innenseite						
nach 24 Stunden	2160	4080	6120	6	2	2
" 48 "	2312	6460	9352	7	2	2
" 72 "	4412	8092	∞	10	3	4
Innenseite						
nach 24 Stunden	320	476	972	8	3	—
" 48 "	—	—	—	—	—	—
" 72 "	218	826	1152	8	6	—

Schlußfolgerungen.

Aus den mitgeteilten Versuchsprotokollen geht hervor, daß in einer großen Anzahl, ja in der Mehrzahl von Fällen die Keimverminderung, welche durch Dermagummit erzielt wird, eine sehr wesentliche ist; in einzelnen Fällen kommt die erreichte Keimzahl der Sterilität nahe.

Daß in meinen Versuchen nicht konstante Sterilität erreicht wurde, liegt nach meiner Ansicht daran, daß beim Aufbringen des Dermagummits auf nicht sterilisierte Hände die Keime wieder verschmiert werden. Dadurch, daß das Dermagummit nach dem Trocknen in neuer Schicht aufgetragen wird, wird diese Fehlerquelle verringert. Beim Chirurgen, der seine Hände kunstgerecht desinfiziert, fällt diese Fehlerquelle fort.

Im Vorhergehenden ist auseinandergesetzt, aus welchen Gründen ich für meine bakteriologischen Versuche zum Auftragen des Dermagummits Arbeits Hände benutzte. Es kann die Dermagummitschicht ein Loch haben, besonders wenn die Auftragung nicht sorgfältig erfolgte, wodurch dann die Hautkeime in die Waschflüssigkeit gelangen, besonders bei nicht vor der Auftragung desinfizierten Händen. Eine absolute Garantie hiergegen gibt der Dermagummitüberzug nicht, jedoch ist diese Gefahr schon sehr wesentlich vermindert, wenn vor dem Aufbringen des Dermagummitüberzuges die Haut durch einen Alkoholwattebausch energisch abgerieben wird. Als praktisch aufgehoben ist diese Fehlerquelle zu betrachten, wenn der Vorschrift entsprechend vor der Dermagummitauftragung die Hand kunstgerecht desinfiziert wird.

Das Präparat kann schon jetzt infolge seiner guten Eigenschaften in der Praxis mit Erfolg verwendet werden. Wenn durch weitere tech-

nische Verbesserungen auch der Rest der Klebrigkeit beseitigt wird, wird es an Stelle des Gummihandschuhs überall da verwendet werden, wo es darauf ankommt, die Haut vor dem Haften von pathogenen Keimen zu schützen, wie bei Sektionen, bei septischen Operationen etc. Denn eine glatte Oberfläche gestattet in ganz anderer Weise ein Abspülen der an die Oberfläche gelangten Bakterien, resp. die Einwirkung von Desinfizienten, als die an Krypten reiche Hautoberfläche.

Für andere Verwendungen des Präparates habe ich nur einige orientierende Versuche angestellt: es ist infolge seiner Reizlosigkeit bei Ekzemen anwendungsfähig, die vor dem Zusammentreffen mit Wasser behütet werden sollen. Dieses Postulat ist in der Praxis außerordentlich schwer durchzuführen, während ein täglich 1—2mal aufgetragener Dermagummitüberzug dies in vollendeter und billiger Weise leistet.

Ich glaubte ferner, daß es Verwendung finden könnte, um empfindliche Haut vor der Heftpflasterreizwirkung zu bewahren, doch scheitert diese Verwendung daran, daß das Dermagummit in dem Pflasterklebstoff in Lösung geht.

Dagegen scheint das Dermagummit nach seinen Eigenschaften geeignet, bei der sexuellen Prophylaxe wertvolle Dienste zu leisten. Es genügt mir, die Aufmerksamkeit der in Betracht kommenden Forscher auf diese Eigenschaft des Präparates gelenkt zu haben, die an geeignetem Material diesbezügliche Versuche anstellen können.

Nachdruck verboten.

Der Dieudonnésche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Choleravibrionen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. H. Kossel).]

Von Dr. Kurt Laubenheimer,

Privatdozent und I. Assistent am Hygienischen Institut.

In einer kürzlich erschienenen Mitteilung berichtet Dieudonné (1) über einen Elektivnährboden für Choleravibrionen, die auf dem neuen Nährmedium sehr üppig wachsen sollen, während andere Bakterien, so namentlich das *Bact. coli* und die übrigen Darmbakterien, nicht oder nur sehr schwach zur Entwicklung gelangen.

Der Nährboden selbst wird in der Weise hergestellt, daß defibriniertem Rinderblut gleiche Mengen Normalkalilauge zugesetzt werden. Es entsteht eine lackfarbene Blutalkalilösung, die im Dampf sterilisierbar und haltbar ist. Von dieser Lösung werden 3 Teile zu 7 Teilen gewöhnlichem neutralen Nähragar hinzugegeben und das Gemisch zu Platten ausgegossen, auf die das zu untersuchende Material mit einem Glasspatel ausgestrichen wird.

Einer Nachprüfung wurden die Angaben Dieudonnés von Huntmüller (2) unterzogen, der ebenso wie Dieudonné in Ermangelung echter Cholerastühle künstlich mit Choleravibrionen versetzte Stühle auf dem Blutalkaliagar ausstrich. Auch Huntmüller fand, daß die Entwicklung der normalen Kotbakterien durch den neuen Nährboden fast

gänzlich zurückgehalten wird, während die Choleravibrionen in großen, glashellen durchscheinenden Kolonien üppig gedeihen.

Das gleiche Verhalten zeigten nach Huntemüller aber auch andere Vibrionen, die auf dem Blutalkaliagar ebenso gut wuchsen, wie echte Choleravibrionen.

Der genannte Autor macht ferner noch auf einen Punkt aufmerksam, der bei Benutzung des Dieudonnéschen Nährbodens nicht außer acht gelassen werden darf. Aus der Blutalkalilösung entwickeln sich nämlich beträchtliche Mengen Ammoniak, die das Wachstum und die Virulenz der Choleravibrionen ungünstig beeinflussen. Aus diesem Grunde dürfen die gegossenen Platten erst nach 24-stündigem Stehen, wenn das Ammoniak verdunstet ist, in Gebrauch genommen werden.

Bei der Beurteilung des Wertes des Blutalkaliagars für die bakteriologische Choleradiagnose ist von großer Bedeutung die Frage nach dem Verhalten der Immunitätsreaktionen — Agglutination und Bakteriolyse — der auf diesem Nährboden gewachsenen Choleravibrionen, da die endgültige Diagnose von dem Ausfall dieser Reaktionen abhängt. Namentlich die Agglutinierbarkeit der Bakterien aber kann durch die chemische Zusammensetzung des Nährmediums wesentlich beeinflusst werden.

Nach Dieudonné soll die Agglutinierbarkeit der auf Blutalkaliagar gewachsenen Choleravibrionen dieselbe sein, wie bei solchen von gewöhnlichem stark alkalischen Agar.

Bei Untersuchungen jedoch, die eine Nachprüfung der Angaben Dieudonnés und Huntemüllers zum Gegenstand hatten, kam ich zu etwas abweichenden Resultaten. Es zeigte sich, daß das Agglutinationsphänomen bei Choleravibrionen, die auf Blutalkaliagar gewachsen sind, gehemmt ist.

Was die Versuchsanordnung betrifft, so ging ich zunächst, wie Dieudonné und Huntemüller, in der Weise vor, daß ich normalem Stuhl Choleravibrionen zusetzte und diesen künstlichen Cholerastuhl auf Blutalkaliagarplatten, die 24 Stunden gestanden hatten, ausstrich.

Nach 16-stündigem Aufenthalt der Platten im Brutschrank von 37° waren die zugesetzten Choleravibrionen auf dem Nährboden in Form ziemlich großer, glashell durchscheinender Kolonien üppig gedeihen, während das Wachstum der Kotbakterien fast vollständig ausgeblieben war. Nur wenige makroskopisch kaum sichtbare Kolonien waren zwischen den Cholerakolonien aufgegangen. Dieser Befund bestätigt also, daß es sich bei dem Dieudonnéschen Nährboden in der Tat um einen ausgezeichneten Elektivnährboden für Choleravibrionen handelt.

Es wurde nun zunächst ein orientierender Agglutinationsversuch in der Weise angestellt, daß auf einem Objektträger in ein Tröpfchen agglutinierendes Choleraserum 1:1000 (Titer 1:6000) eine Nadelspitze von den Cholerakolonien verrieben wurde. Die Agglutination der Vibrionen blieb bei diesem Versuche anscheinend aus, wenigstens konnte bis zur Verdunstung des Tropfens makroskopisch keine Ausflockung bemerkt werden. Zur Kontrolle wurden bei gleicher Versuchsanordnung in dieselbe Serumverdünnung Choleravibrionen des gleichen Stammes („Cholera B₄“) gebracht, der aber auf dem gewöhnlichen für Choleravibrionen empfohlenen stark alkalischen Agar gezüchtet war. Diese Vibrionen wurden fast momentan agglutiniert.

Um diese Hemmung der Agglutinationsreaktion der auf Blutalkaliagar gewachsenen Vibrionen weiter zu verfolgen, züchtete ich die mir

zur Verfügung stehenden Cholerastämme¹⁾ auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar und auf Blutalkaliagar nach Dieudonné und titrierte die Kulturen mit agglutinierendem Serum aus. Zur Verwendung gelangten stets Schrägagarkulturen von 16–18 Stunden. Das Serum¹⁾ hatte einen Titer von 1:6000. Die Reaktion wurde makroskopisch an- gestellt, und das Resultat nach 1-stündigem Aufenthalt der Röhrchen bei 37° abgelesen.

Nachstehende Tabelle I gibt das Ergebnis dieser Untersuchungen wieder.

Tabelle I.

Verdünnung des Serums	„Cholera B ₂ “		„Cholera B ₄ “		„Cholera B ₆ “		„Cholera Rußland,“		„Cholera 74“	
	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)
1:1000	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++
1:2000	+++	++	+++	+	+++	++	+++	+	+++	++
1:3000	+++	+	+++	±	+++	+	+++	+	++	+
1:4000	++	+	++	—	++	+	+++	±	++	+
1:5000	+	—	+	—	+	±	++	—	+	+
1:6000	±	—	—	—	±	—	+	—	—	—
Kontrolle (NaCl)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a) = Kulturen von gewöhnlichem stark alkalischen Agar, b) = Kulturen von Blutalkaliagar, +++ = sehr starke Agglutination, ++ starke Agglutination, + deutliche Agglutination, ± eben noch sichtbare Agglutination, — = keine Agglutination.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Agglutinierbarkeit der auf Blutalkaliagar gewachsenen Vibrionen gegenüber solchen, die auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar gezüchtet sind, herabgesetzt ist. Diese Behinderung der Agglutination ist bei allen geprüften Stämmen deutlich zu erkennen, wenn auch ihre Intensität verschieden ist. Am stärksten machte sich die Hemmung bei Stamm „Cholera B₄“ bemerkbar. Denn während die Grenze der Reaktion bei diesem Stamm, auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar gewachsen, bei einer Verdünnung des Serums von 1:5000 lag, wurde der gleiche Stamm, aber auf Blutalkaliagar gezüchtet, schon bei einer Verdünnung von 1:3000 nur noch un- deutlich agglutiniert.

Eine ähnlich starke Herabsetzung der Agglutinierbarkeit wie „Cholera B₄“ zeigten die Stämme „Cholera B₂“ und „Cholera Rußland,“. Bei „Cholera 74“, einen alten Laboratoriumsstamm, waren die Unterschiede weniger scharf ausgesprochen; die Grenze der Agglutination lag bei den Kulturen auf Blutalkaliagar, wie bei solchen auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar bei 1:5000. Aber auch hier ist eine Hemmung des Agglutinationsphänomens insofern zu erkennen, als die Intensität der Reaktion (bezeichnet durch +++, ++, +, ±) bei den Vibrionen von Blutalkaliagar weniger stark ist.

Zur Kontrolle dieser Befunde wurden die Versuche in der angegebenen Weise noch einmal mit frisch angelegten Kulturen und neu hergestellten Serumverdünnungen wiederholt. Das Resultat war das gleiche, wie bei der ersten Versuchsserie: die Agglutinierbarkeit der Blutalkaliagarkulturen war herabgesetzt, die Reaktion verlief langsamer und weniger intensiv als bei den Kulturen auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar.

1) Die Kulturen und die spezifischen Sera verdankt das Institut dem Entgegen- kommen des Kaiserlichen Gesundheits-amtes in Berlin.

Nicht anders gestalteten sich die Ergebnisse bei Verwendung eines zweiten Serums mit einem Titer von 1:8000. Während durch dieses Serum „Cholera B₄“ auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar bis zur Titergrenze agglutiniert wurde, lag die Grenze der Agglutinierbarkeit von Blutalkaliagarkulturen desselben Stammes schon bei 1:5000—1:6000.

Nachdem durch die vorstehend mitgeteilten Versuche eine Behinderung der Agglutination der auf Blutalkaliagar gewachsenen Cholera-vibrionen festgestellt war, erschien die Frage von Wichtigkeit, ob dieser Nährboden vielleicht auch die Bakteriolyse in dem einen oder anderen Sinne beeinflusse. Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Stämme „Cholera B₂“, „Cholera B₄“ und „Cholera 74“ auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar und auf Blutalkaliagar gezüchtet und mit diesen Kulturen der Pfeiffersche Versuch ausgeführt. Das bakteriolytische Serum hatte einen Titer von 2 mg. Die angewandte Dosis betrug 4 mg.

Sowohl bei Kulturen von stark alkalischem Agar wie bei den Blutalkaliagarkulturen waren 15 Minuten nach der Injektion des Bakterien-serumgemisches in dem Peritonealexsudat der Meerschweinchen nur noch wenige erhaltene Vibrionen zu erkennen, die Mehrzahl war schon in Kugeln verwandelt. Nach 30 Minuten war die Bakteriolyse bei allen Kulturen vollständig. Die drei untersuchten Stämme verhielten sich untereinander gleich.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Bakteriolyse der Cholera-vibrionen, die auf Blutalkaliagar gewachsen sind, die gleiche ist, wie bei solchen von gewöhnlichem stark alkalischen Agar.

Wie die Agglutination, so beeinflusst der Dieudonné'sche Nährboden auch die Form und Färbbarkeit, sowie die Beweglichkeit der auf ihm gewachsenen echten Cholera-vibrionen und choleraähnlichen Vibrionen.

Was zunächst die Beweglichkeit betrifft, so ist dieselbe bei Vibrionen von Blutalkaliagar häufig erhöht, wie aus nachstehender Zusammenstellung (Tabelle 2) ersichtlich ist. Namentlich die Stämme „Cholera B₂“, „Cholera B₄“ und „Cholera Rußland₂“ zeigten, auf Blutalkaliagar gewachsen eine deutlich erhöhte Beweglichkeit.

Tabelle 2.

Stamm	Gezüchtet auf	
	gewöhnlichem stark alkalischen Agar	Blutalkaliagar
Vibrio „Elwers“	mäßig lebhaft beweglich	mäßig lebhaft beweglich
Vibrio „b St. Petersburg“	lebhaft beweglich	lebhaft beweglich
„Cholera B ₂ “	lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich
„Cholera B ₄ “	lebhaft beweglich	lebhaft beweglich
„Cholera B ₆ “	lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich
„Cholera Rußland ₂ “	Nur einzelne Vibrionen zeigen Bewegung	lebhaft beweglich
„Cholera 74“	lebhaft beweglich	sehr lebhaft beweglich

Während die Beweglichkeit der auf Blutalkaliagar gewachsenen Vibrionen im allgemeinen eine Steigerung erfährt, wirkt der neue Nährboden entschieden ungünstig auf die Form und besonders auf die Färbbarkeit der echten Cholera-vibrionen und der choleraähnlichen Vibrionen ein. Auch diese Untersuchungen stelle ich wieder in Form einer Tabelle zusammen. Zu bemerken ist, daß die Präparate gleich lange, 5 Minuten, mit verdünntem Karbol-fuchsin 1:10 gefärbt wurden.

Tabelle 3.

Stamm	Gewachsen auf	
	a) gewöhnlichem stark alkalischen Agar	b) Blutalkaliagar
Vibrio „Elwers“	Kurze, sehr krumme Formen. Färbbarkeit gut	Starke Polymorphie. Viele Exemplare sehr schlecht gefärbt
Vibrio „b St. Petersburg“	Ziemlich lange, schlanke, meist gebogene Formen. Färbbarkeit gut	Formen im allgemeinen kürzer. Sehr viele Vibrionen haben die Farbe kaum aufgenommen
„Cholera B ₁ “	Vibrionen lang, schlank, gerade oder nur leicht gebogen. Färbbarkeit gut	Sehr kurze, wenig gebogene Formen. Färbbarkeit gut
„Cholera B ₄ “	Vibrionen lang, schlank, meist gerade. Färbbarkeit gut	Vibrionen kürzer. Färbbarkeit etwas geringer
„Cholera B ₅ “	Ziemlich plumpe, krumme Formen. Färbbarkeit gut	Viele krumme, plumpe, daneben auch schlanke gerade Formen. Viele Vibrionen schlecht gefärbt
„Cholera Rußland ₂ “	Typische, meist krumme, gut gefärbte Vibrionen	Das gleiche Verhalten wie bei a)
„Cholera 74“	Sehr lange, schlanke, fadenförmige Formen. Färbbarkeit gut	Formen kürzer, wie bei a). Viele Kügelchen. Färbbarkeit sehr schlecht

Aus vorstehender Zusammenstellung ist ersichtlich, daß die Vibrionen von gewöhnlichem stark alkalischen Agar in derselben Kultur unter sich meist gleichmäßig gestaltet waren, und daß sie die Farbe gut aufnahmen. Die Kulturen auf Blutalkaliagar dagegen zeigten einen weitgehenden Polymorphismus und eine zum Teil sehr stark herabgesetzte Färbbarkeit. Nur die Stämme „Cholera B₂“ und „Cholera Rußland₂“ hatten auf Blutalkaliagar ungefähr die gleiche Färbbarkeit, wie die Kulturen auf gewöhnlichem stark alkalischen Agar. Diese Beeinflussung der Form und Färbbarkeit der Vibrionen durch den Blutalkaliagar beeinträchtigt natürlich nicht seinen Wert als Elektivnährboden.

Das Resultat der vorstehend mitgeteilten Untersuchungen fasse ich dahin zusammen, daß der Dieudonné'sche Blutalkaliagar einen ausgezeichneten Elektivnährboden für Choleravibrionen, aber auch für choleraähnliche Vibrionen darstellt. Ungünstig beeinflusst wird durch den Blutalkaliagar die Morphologie und die Färbbarkeit der Vibrionen.

Die Tatsache, daß die Agglutinierbarkeit der auf Blutalkaliagar gewachsenen Choleravibrionen nicht unbedeutend herabgesetzt sein kann, wird bei der Identifizierung verdächtiger Kolonien durch agglutinierendes Serum nicht unberücksichtigt bleiben.

Literatur.

- 1) Dieudonné, Blutalkaliagar, ein Elektivnährboden für Choleravibrionen. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 107.)
- 2) Huntemüller, Der Dieudonné'sche Blutalkaliagar. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 109.)

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Cholera-vibrionen.**

[Aus dem staatl. serotherap. Institut in Wien (Vorstand Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Von k. k. Reg.-Arzt Dr. J. Hachla und Dr. Th. Holobut.

Vor einiger Zeit hat Dieudonné einen Nährboden angegeben, der zur elektiven Züchtung des Cholera-vibrio geeignet sein soll. Der Nährboden besteht aus Neutralagar und alkalisiertem defibrinierten Blut von bestimmter Zusammensetzung. Die Versuche, welche zur Nachprüfung dieser Angaben von Huntemüller in Gaffkys Laboratorium vorgenommen wurden, haben die Angaben von Dieudonné vollkommen bestätigt.

Unsere Untersuchungen betreffen ebenfalls die Verwertbarkeit des Dieudonnéschen Nährbodens, außerdem auch das Verhalten anderer pathogenen Mikroorganismen (Typhus-, Paratyphus-, Coli-, Ruhrbacillen) und besonders den Einfluß der Herkunft und Beschaffenheit des Blutes sowie des Alkaligehaltes auf die Brauchbarkeit des Nährbodens. In letzterwähnter Richtung haben wir bei unseren Versuchen genau nach Dieudonnés Vorschrift zubereitete Nährböden, aber von geringerem Alkaligehalte hergestellt. Nach der Angabe Dieudonnés besteht sein Nährboden aus einer Mischung von Neutralagar und alkalisiertem Blut vom Rind im Verhältnis 7:3. Das Blutalkali ist eine Mischung von Rinderblut und Normalkalilauge zu gleichen Teilen, welche durch eine halbe Stunde im Dampfströme sterilisiert wurde. In unseren Versuchen haben wir die Zusammensetzung des Blutalkalis derart variiert, daß das Verhältnis des Blutes zu Alkali nicht nur nach Dieudonné 1:1, sondern in einer zweiten Reihe 1:0,75, in einer weiteren 1:0,5 betrug. Das Mischungsverhältnis von Neutralagar zu Blutalkali blieb unverändert das von Dieudonné angegebene. Die aus diesen Mischungen hergestellten Platten wurden 24 Stunden bei 37° C getrocknet, weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann erst geimpft.

In unseren Versuchen Tabelle I, in welchen Reinkulturen von Cholera-

Tabelle I.
Rinderblutplatten; geimpft, Cholera, Typhus, Coli.

Platten	1 Blut: 1 N.-Kalilauge	1 Blut: 0,75 N.-Kalilauge	1 Blut: 0,5 N.-Kalilauge
vom 16. Juni	Cholera gutes Wachst.	Cholera sehr gutes Wachstum	Cholera gutes Wachstum
geimpft 26. Juni	Typhus, Coli kein Wachstum	Typhus, Coli kein Wachstum	Typhus, Coli mäßiges Wachstum
vom 16. Juni	dgl.	dgl.	dgl.
geimpft 26. Juni			
vom 16. Juni			
geimpft 19. Juni	"	"	"
vom 20. Juni	"	"	"
geimpft 24. Juni	"	"	"
vom 20. Juni	"	"	"
geimpft 25. Juni	"	"	"
vom 24. Juni	"	"	"
geimpft 27. Juni			

Rinderblut. Platten vom 15. Juli, geimpft 17. Juli			Schweinblut. Platten vom 15. Juli, geimpft 17. Juli			Gewachsene Kolonien auf Normal-agarplatten 19. Juli verimpft						
1 Bl.: 1 N.-KOH	1 Bl.: 0,75 N.-KOH	1 Bl.: 0,5 N.-KOH	1 Bl.: 1 N.-KOH	1 Bl.: 0,75 N.-KOH	1 Bl.: 0,5 N.-KOH	1:1	1:0,75	1:0,5				
Gemisch Typhus, Coli.												
24 Std. ϕ	ϕ	ϕ	24 Std. ϕ	ϕ	spärliche Kolonien							
48 Std. ϕ	sehr spärliche Kolonien	gutes Wachstum	48 Std. ϕ	sehr spärliche Kolonien	spärliches üppiges Wachstum	ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum				
<p>Faeces mit Cholera Pfeiffer.</p> <p>24 Std. ϕ</p>									sehr gut	üppiges Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum
48 Std. ϕ	gutes Wachstum	sehr gutes Wachstum	48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum				
<p>Faeces.</p> <p>24 Std. ϕ</p>									vereinzelt spärliche Kol.	spärliche Kolonien	gutes Wachstum	gutes Wachstum
48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum				
<p>Faeces mit Cholera Pfeiffer.</p> <p>24 Std. ϕ</p>									sehr gut	üppiges Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum
48 Std. ϕ	gutes Wachstum	sehr gutes Wachstum	48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum				
<p>Faeces.</p> <p>24 Std. ϕ</p>									vereinzelt spärliche Kol.	spärliche Kolonien	gutes Wachstum	gutes Wachstum
48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	48 Std. ϕ	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum	gutes Wachstum				

vibrionen, Typhus und Coli auf den Dieudonnéschen Nährboden, sowie auf Nährböden von geringerem Alkaligehalte gebracht wurden, zeigt sich der Nährboden von Dieudonné als sehr geeignet zur elektiven Züchtung von Vibrionen. Die Cholera und cholera-ähnlichen Vibrionen wachsen nämlich sehr üppig, während

Tabelle III a.

Versuch am 4. Juli. Blut von Gans, Kaninchen, Meerschweinchen, Ziege.
Platte vom 2. Juli bei 37° C getrocknet; geimpft am 4. Juli: Ty, Coli, El Tor, Flexner, Shiga.

Blut von:	1 Blut:1 N.-Kalilauge	1 Blut:0,75 N-Kalilauge	1 Blut:0,5 N-Kalilauge
Ziege	nach 24 Std. kein Wachstum	nach 24 Std. mäßiges Wachstum El Tor	nach 24 Std. gutes Wachstum El Tor; sehr mäßig Coli
	nach 48 Std. kein Wachstum	nach 48 Std. gutes Wachstum El Tor	nach 48 Std. dgl.
Meerschweinchen	nach 24 Std. kein Wachstum	nach 24 Std. kein Wachstum	nach 24 Std. gutes Wachstum El Tor; mäßig Coli, Typh.
	nach 48 Std. kein Wachstum	nach 48 Std. mäßiges Wachstum El Tor	nach 48 Std. dgl.
Kaninchen	nach 24 Std. kein Wachstum	nach 24 Std. sehr mäßiges Wachstum El Tor	nach 24 Std. sehr gutes Wachstum El Tor
	nach 48 Std. kein Wachstum	nach 48 Std. sehr mäß. Wachstum El Tor	nach 48 Std. dgl.
Gans	nach 24 Std. kein Wachstum	nach 24 Std. gutes Wachstum El Tor	nach 24 Std. sehr gutes Wachstum El Tor, sehr mäßig Coli
	nach 48 Std. spärlich. Wachstum, El Tor	nach 48 Std. gutes Wachstum El Tor	nach 48 Std. dgl.

Tabelle III b.

Versuch am 6. Juli. Platte vom 2. Juli. Geimpft: Coli, Typhus, El Tor, Shiga, Kruse.

Ziege	kein Wachstum	mäß. Wachstum El Tor	sehr gut El Tor
Kaninchen	kein Wachstum	—	sehr gut El Tor; spärlich. Coli, Typhus Fl., Sh.,
Meerschweinchen	kein Wachstum	gut El Tor	sehr gut El Tor; spärlich. Coli, Typhus
Gans	kein Wachstum	mäßig El Tor	gut El Tor, spärlich. Typhus, Coli, Fl.

Versuch vom 7. Juli. Platten vom 2. Juli. Geimpft El Tor, Shiga, Flex., Coli, Typhus.

Ziege	kein Wachstum	gut El Tor, spärlich Ty, Coli, Shiga	sehr gut El Tor, sehr mäß. Coli, Ty, Flex., Shiga
Kaninchen	kein Wachstum	—	sehr gut El Tor, sehr mäß. Coli, Flex., Ty, Shiga
Meerschweinchen	kein Wachstum	sehr gut El Tor, sehr mäßig Coli, Flex.	sehr gut El Tor, sehr mäß. Coli, Flex., Ty, Shiga
Gans	sehr mäßig El Tor	ziemlicher gut El Tor, sehr spärlich. Coli, Ty.	sehr gut El Tor, sehr mäß. Ty, Coli, Flex., Shiga

Tabelle III c.

Pferdeblutplatten geimpft: Typhus, Coli, El Tor, Shiga, Flexner.

	Verhältnis des Blutes zu N.-Kalilauge wie:		
	1 : 1	1 : 0,75	1 : 0,5
vom 27. Juni geimpft 30. Juni	El Tor mäßig	El Tor mäßig	sehr gut El Tor, spärlich Coli, Typhus
vom 27. Juni geimpft 1. Juli	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, spärlich Coli, Typhus
vom 27. Juni geimpft 3. Juli	dgl.	dgl.	dgl.
vom 27. Juni geimpft 7. Juli	"	"	"
Schweineblutplatten: geimpft El Tor, Typhus, Coli, Flexner.			
vom 7. Juli geimpft 9. Juli	El Tor gut	El Tor gut	El Tor gut, Coli, Typhus Spur
vom 7. Juli geimpft 11. Juli	dgl.	dgl.	dgl.
	"	"	"

Tabelle III d.

Versuch am 11. Juli. Blut von Gans, Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen, Pferd, Schwein und Rind.

Platten vom 8.—10. Juli bei 37° getrocknet; geimpft am 11. Juli mit folgenden Kulturen vom 9. Juli: Typhus, Coli, El Tor, Dysenterie, Flexner.

Blut von:	1 Blut:1 Norm.-Kalilauge	1 Blut:0,75 Norm.-Kalilauge	1 Blut:0,5 Norm.-Kalilauge
Gans	24 Std. ♂	El Tor gut, Coli Spur	El Tor sehr gut, Coli Spur
	48 Std. ♂	El Tor sehr gut ♂	El Tor sehr gut, Coli Spur
Ziege	24 Std. ♂	El Tor gut	El Tor sehr gut, Coli spärlich
	48 Std. ♂	El Tor sehr gut, Typhus, Coli spärlich	El Tor sehr gut, Typhus, Coli mäßig
Kaninchen	24 Std. ♂	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli spärlich
	48 Std. ♂	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli mäßig
Meerschweinchen	24 Std. ♂	El Tor gut	El Tor sehr gut, Coli sehr spärlich
	48 Std. ♂	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli mäßig
Pferd	24 Std. El Tor gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut
	48 Std. El Tor sehr gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli mäßig
Schwein	24 Std. El Tor sehr gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli spärlich
	48 Std. El Tor sehr gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli ziemlich gut, außerdem Verunreinigungen
Rind	24 Std. El Tor spärlich	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut
	48 Std. El Tor gut	El Tor sehr gut	El Tor sehr gut, Coli spärlich

sich die anderen Mikroorganismen entweder gar nicht oder nur sehr kümmerlich entwickeln. Dasselbe Verhalten ergibt sich auf den Nährböden, die mit dem Blutalkali 1,0:0,75 herge-

stellt wurden, während beim Verhältnis 1:0,5 die Unterschiede verschwinden, indem sich auch die anderen Mikroorganismen entwickeln. Diese Resultate stehen im Einklange mit den Versuchen Huntmüllers, der ebenfalls Nährböden von geringerem Alkaligehalte prüfte. Wurden auf die Dieudonnéschen Platten Faeces verimpft, so zeigte sich nur ein sehr geringes Wachstum der in ihnen normalerweise enthaltenen Mikroorganismen, während wir üppige fast reine Kulturen von Choleravibrionen erhielten, wenn Faeces mit Choleravibrionen gemengt verimpft wurden (s. Tabelle II). Nachdem uns die besprochenen Versuche eine Bestätigung schon von anderer Seite gemachter Beobachtungen ergeben hatten, haben wir uns weiterhin mit der Frage beschäftigt, wie sich Choleravibrionen resp. die anderen Mikroorganismen auf Platten verhalten, die sonst nach Dieudonnés Vorschrift, aber mit Blut anderer Herkunft bereitet waren. Neben den mit Blutalkali hergestellten Platten wurden demnach solche mit dem Blute von Pferd, Schwein, Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen und Gans angefertigt, und zwar von jeder Art sowohl im Verhältnis 1:1, als auch solche 1:0,75 und 1:0,5.

Aus den in Tabelle IIIa, b, c, d mitgeteilten Ergebnissen ist zu ersehen, daß zur Herstellung eines elektiven Nährbodens Schweine- und Pferdeblut noch geeigneter ist, als das von Dieudonné angegebene Rinderblut. Die Unterschiede im Wachstum der Vibrionen und der anderen Keime sind noch markanter.

Das Blut von Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen und Gänsen zeigt sich insofern weniger geeignet, als auf den Platten mit dem Blutalkaliverhältnisse 1:1 sehr oft überhaupt kein Wachstum, auch nicht der Vibrionen, auftritt und erst bei Platten, die weniger Alkali enthalten, sich Wachstum der Choleravibrionen einstellt. In diesem Falle sieht man aber neben den spärlichen Cholerakolonien manchmal, wenn auch sehr geringe, Entwicklung anderer Mikroorganismen, wie Typhus, Coli, Dysenterie Flexner und Shiga-Kruse.

Wir haben endlich mehr aus theoretischen als praktischen Gründen auch Nährböden angefertigt, in denen an Stelle des frischen Blutes getrocknetes, gewaschenes und getrocknetes oder Hämoglobin Merck verwendet wurde. Es ergab sich [Tabelle IV 1), 2)] hinsichtlich der Her-

Tabelle IV 1).

Rinderblut 10 ccm getrocknet mit 10 ccm Aqua destillata nachgefüllt und mit absteigenden Dosen von Normalkalilauge gemischt, und zwar 1:1, 1:0,75, 1:0,5. Die Platten wurden im Brutofen bei 37° getrocknet, geimpft mit Typhus, Coli, El Tor, Dysenterie, Flexner.

	1 Blut:1 Norm.- Kalilauge	1 Blut:0,75 Norm.- Kalilauge	1 Blut:0,5 Norm.- Kalilauge
Rinderblut getrocknet	24 Std. \emptyset 48 Std. \emptyset	\emptyset El Tor mäßig	El Tor sehr gut, Typhus, Coli, Flexner sehr mäßig
Rinderblut gewaschen und getrocknet	24 Std. \emptyset 48 Std. \emptyset	\emptyset \emptyset	El Tor gut El Tor gut
Schweineblut getrock- net	24 Std. \emptyset 48 Std. \emptyset	El Tor gut El Tor gut	El Tor gut El Tor sehr gut
Ziegenblut getrocknet	24 Std. \emptyset 48 Std. \emptyset	El Tor sehr spärlich El Tor spärlich	El Tor gut El Tor sehr gut
Kaninchenblut getrock- net	24 Std. \emptyset 48 Std. \emptyset	\emptyset \emptyset	El Tor spärlich El Tor sehr spärlich

Tabelle IV 2).

3 g Hämoglobin Merck in 27 ccm Aqu. destill. gelöst, zu 3 gleichen Teilen geteilt und zu jedem Teil je 10, 7,5, 5 ccm Norm.-KOH zugegeben und $\frac{1}{2}$ Stunde bei strömendem Dampf sterilisiert und in Platten 3:7 Neutralagar gegossen.

Nach 36 Stunden geimpft mit El Tor, Ty, Coli, Flexner.

Verhältnis der Hämoglobinlösung zu Norm.-Kalilauge wie:	
1:1	1:0,75
nach 24 Std. üppiges Wachstum Cholera	üppiges Wachstum Cholera

Dieselben Platten nach 60 Stunden geimpft mit denselben Kulturen; auf allen Platten kein Wachstum.

Platten hergestellt aus folgender HämoglobinkalilaugeLösung.

2 g Hgbl. + 10 Aq. dest. + 10 KOH Norm.-Lösung	} El Tor sehr gut geimpft nur mit El Tor
2 g Hgbl. + 10 Aq. dest. + 7,5 KOH Norm. + 7,5 Aq. dest.	
2 g Hgbl. + 10 Aq. dest. + 5 KOH Norm. + 5 Aq. dest. wurden	

stellung und hinsichtlich der Verwendbarkeit zur elektiven Züchtung kein besonderer Vorteil. Ebenso wenig erwiesen sich flüssige Blutalkalinährböden (7 Teile Bouillon: 3 Teile Blutalkali verschiedener Herkunft) verwendbarer als gewöhnliche Bouillon oder Peptonwasser, eine Beobachtung, die schon von Dieudonné hervorgehoben wurde.

Unsere Untersuchungen bestätigen somit die Verwendbarkeit des von Dieudonné angegebenen Nährbodens zur elektiven Kultur der Choleravibrionen, haben aber ferner ergeben, daß diese nicht gerade an das Blutalkaliverhältnis 1:1 oder an die Herkunft des Blutes vom Rind gebunden ist, indem Schweine- und Pferdeblut sich sogar brauchbarer gezeigt hat. In einzelnen Versuchen mit Paratyphusbacillen erhielten wir manchmal auch Wachstum sowie mit Vibrionen.

Inhalt.

- | | |
|--|--|
| <p>Bergman, Arvid M., Ueber kongenitale Tuberkulose beim Rindvieh, p. 193.</p> <p>Fermi, Claudio, Sur l'action lyssicide de la papaine et du suc blanc de Ficus carica, p. 265.</p> <p>—, Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die Mikroorganismen und der Mikroorganismen auf die Enzyme, p. 252.</p> <p>—, Aufnahmefähigkeit der Muriden gegenüber der Tollwut durch Ingestion des Wutmaterials je nach den verschiedenen Monaten des Jahres, p. 239.</p> <p>Fromme, W., Ueber das Vorkommen von Pulex cheopis auf Schiffsratten und Schiffsmäusen, p. 243.</p> <p>Hachla, J. und Holobut, Th., Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Choleravibrionen, p. 299.</p> <p>Hess, Alfred F., Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal, p. 190.</p> <p>Laubenheimer, Kurt, Der Dieudonné'sche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Choleravibrionen, p. 294.</p> <p>Mosebach, Ueber das Vorkommen von Typhusbacillen in von Typhusbacillenträgern benutzten Abortgruben, p. 170.</p> <p>Pollaci, G. und Ceraulo, S., Das Agglutinationsvermögen einiger Körper-</p> | <p>flüssigkeiten beim Meditterranfieber, p. 268.</p> <p>Rabinowitsch, Marcus, Ueber die Flecktyphusepidemie in Kiew, p. 173.</p> <p>Repetto, R., Antiwutimpfung, vorgenommen an einigen Hunden mittels einer Mischung von Fermischem Vaccin und Antiwutserum vom Pferde, p. 264.</p> <p>Revenstorf, Bericht über die Ergebnisse von Virulenzprüfungen an alten Peststämmen, p. 161.</p> <p>Riquier, Joseph Karl, Die Larve von Pomphorhynchus laevis Zoega (= Echinorhynchus proteus Westr.) in der Tinca vulgaris und dessen experimentell erzielte Entwicklung in Esox lucius, p. 248.</p> <p>Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren, p. 235.</p> <p>Schmid, Gerh., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum, p. 200.</p> <p>Vetrano, G., Bakteriolytische und antitoxische Wirkung der Galle, p. 275.</p> <p>Werner, H., Ueber Befunde von Darmspirochäten beim Menschen, p. 241.</p> <p>Wolf-Eisner, A., Bakteriologische Untersuchungen über Händedesinfektion, speziell mit Dermagummit, p. 286.</p> |
|--|--|

Nachdruck verboten.

Ueber körnchenartige Bildungen in Pestbakterien.

Von Dr. Franz Vay, Arzt der Quarantänestation Suez.

Mit 1 Tafel.

In Abt. I. Orig. Bd. 48. Heft 3. p. 257 des Centralblattes für Bakteriologie etc. gibt Eisenberg eine Uebersicht über eine Anzahl farbchemischer Untersuchungen betreffend körnchenartige Gebilde in Bakterien, speziell Milzbrandbacillen. Er spricht dieselben als Fetteinschlüsse an, ~~in Uebereinstimmung mit einer Anzahl anderer Autoren die die gleichen~~

Zur gefl. Beachtung!

Die beiden zur Arbeit „Elmassian“ gehörigen Tafeln konnten leider diesem Hefte nicht mehr beigelegt werden, sie werden mit dem nächsten Hefte nachgeliefert.

Die Verlagsbuchhandlung.

wandt:

- 1) α -Naphthol gelöst in 1-proz. Sodalösung.
- 2) Phenol zu 5 Proz. gelöst in Normallauge.
- 3) Jod als Jodtinktur, Jodglyzerin oder verdünnte Lugolsche Lösung.
- 4) Verdünnte Pikrinsäurelösung.
- 5) 1-proz. Sodalösung allein.

Zu No. 1. Es ist mir nie gelungen, die eigentliche Naphtholblaureaktion bei Pestbacillen zu erzielen. Verwendet wurde eine 1—2-proz. wässrige, frische, bis 3—4 Wochen alte Lösung von Paraphenylendiamin. Mit dieser wurden die Bacillen verrieben und dann versetzt mit alkalischer α -Naphthollösung allein oder zusammen mit 0,1-proz. Lösung von Ferricyankalium.

Die übrigen von Eisenberg untersuchten Farbstoffe, die eine der Naphtholblaufärbung analoge geben sollten, wie Orcin, Resorcin, Nitrosodimethylanilin, Muscarin, habe ich nicht angewandt.

Dagegen erhielt ich sehr schöne Resultate beim Zusatz einer verdünnten, wässrigen Lösung von Fuchsin (Fuchsin für Bacillenfärbung-Grübler, wahrscheinlich salzsaures Rosanilin), ebenso mit Resorcin-fuchsin (nach Weigert-Grübler) und der Rosanilinbase.

Im Gegensatz zu Eisenberg, der die sauren Farben als ungeeignet bezeichnet, habe ich mit Fuchsin S, Säurefuchsin nach Weigert (Grübler, eine Sulfosäure des Rosanilins) eine Färbung der Körnchen bekommen.

Von anderen Farbstoffen wurden noch Vesuvin und Bismarckbraun (Grübler) sowie Smaragdgrün mit Erfolg benutzt.

Zu No. 2. Auch hier erweist sich als geeignetster Farbstoff das Fuchsin, speziell das Resorcinfuchsin, ebenso bekommt man gute Resultate mit Pararosanilin.

Zu No. 3. Schöne Bilder bekam man mit verdünnter Lugolscher Lösung (1:3 Aqua) und Resorcinfuchsin, dann auch mit Fuchsin und Pararosanilin, ferner noch mit Smaragdgrün.

Die genannten Farbstoffe müssen in starken Verdünnungen angewandt werden, um Niederschläge zu vermeiden, mit Ausnahme des Smaragdgrüns, wo wegen des geringeren Hervortretens der Farbe im durchfallenden Lichte etwas stärkere Konzentrationen empfehlenswert sind.

Die Körper der Bacillen selbst färben sich bei geeignetem Verfahren nur schwach oder gar nicht; dagegen imbibieren die Körnchen den Farbstoff gut, besonders wenn man denselben längere Zeit einwirken läßt.

Verwendet wurden auch noch Gentiana- und Methylviolett, indessen färben sich besonders bei ersterem auch andere Zellbestandteile mit. Nimmt man die Farben zu verdünnt, so tritt nur eine undeutliche Färbung ein, bei stärkerer Konzentration erscheinen die Körnchen bedeutend voluminöser als bei den anderen oben genannten Farben, und der Zelleib wird diffus mitgefärbt.

Zu No. 4. Die Behandlung mit Pikrinsäure scheint der mit Jod völlig gleichwertig zu sein. Nimmt man die Farblösungen genügend verdünnt, so übt die Konzentration der Pikrinsäurelösung keinen Einfluß aus. Geprüft wurden wässriges Fuchsin, Resorcinfuchsin, Pararosanilin, Smaragdgrün und Gentianaviolett.

Zu No. 5. Die Beize eignet sich für alle die oben erwähnten Farbstoffe; schöne Bilder erhält man mit Pararosanilin, Vesuvin, Bismarckbraun, auch mit Fuchsin (einfachem wässrigen sowohl wie mit Säurefuchsin).

Mit Indophenolblau habe ich eine Färbung nicht erhalten (können).

Am meisten in Betracht kommt hier die Nilblausulfatmethode: Verreiben der Bacillen mit Nilblausulfat und nachträglicher Zusatz von 1-proz. Sodalösung.

Bemerkungen zu den erwähnten Färbemethoden.

Am meisten empfehlenswert scheint mir die unter No. 5 erwähnte Nilblausulfatmethode zu sein.

Es genügt, eine Platinöse Farblösung auf den Objektträger zu bringen, hierin die Bakterien zu verreiben und dann eine Oese Sodalösung zuzusetzen; man kann auch so lange Sodalösung zusetzen, bis Entfärbung des Nilblausulfates eingetreten ist.

Unter dem Einflusse der Sodalösung tritt eine ziemlich starke Quellung ein; wenn die Färbung gut gelungen ist, dann sind die Bacillen nur ganz schwach blaßblau gefärbt, die Körnchen treten dagegen tiefblau bis violett deutlich hervor.

Es ist gut, wie überhaupt bei allen Methoden, die die vitale Färbung bezwecken, ein Antrocknen der Bacillen am Objektträger zu vermeiden. Ferner füge man die Sodalösung sofort nach dem Verreiben der Bacillen

in der Farblösung zu und lasse diese nicht zu lange erst sich mit dem Nilblau färben; die nachträgliche Entfärbung wird sonst zu sehr erschwert.

Die nächstbeste Methode dürfte die Kombination von verdünnter Pikrinsäurelösung und Fuchsin (wässriges für Bakterienfärbung) sein; man verwende auch hier die Farblösung möglichst verdünnt und lasse die Bakterien nicht antrocknen, um Ueberfärbung und Mitfärbung anderer Protoplasmapartien zu vermeiden.

Gut ist auch die Kombination der Pararosanilinbase und des Resorcinfuchsin mit α -Naphthol in 1-proz. Soda, oder auch nur mit 1-proz. Soda-lösung allein.

Gewöhnlich habe ich mich auf die eben erwähnten Methoden beschränkt. In zweifelhaften Fällen habe ich auch Smaragdgrün mit Pikrinsäure angewandt, jedoch läßt sich dies nur mit starker Beleuchtung, am besten bei hellem Tageslicht, ausführen, da die grünlichen Körnchen nicht sehr hervortreten.

Das gleiche gilt vom Bismarckbraun und Vesuvium.

Die Violette (Gentiana- und Methylviolett) werden am besten mit Pikrinsäure angewandt, sie geben leicht Ueberfärbungen. Mit Jod zusammen, besonders wenn man eine stärkere Jodlösung verwendet, tritt oft eine diffuse Schwarzfärbung der ganzen Bakterien auf.

Durch Zusatz von sehr verdünnter, wässriger Methylenblaulösung (medicinale purum Höchst), das man seitlich vom Rande des Deckgläschens her zutreten läßt, kann man die Körnchen deutlicher hervortreten lassen. Es gelingt das sowohl bei der Nilblaufärbung, wie auch ganz besonders bei den verschiedenen Rotfärbungen. Die Färbung hält jedoch nicht sehr lange stand und blaßt sofort ab; es werden dann auch die Körnchen entfärbt.

Mit Methylenblau (medic. pur. extra) und Jodlösung habe ich die Körnchen nur undeutlich erhalten. Es tritt hierbei eine mehr oder minder starke, störende, diffuse Färbung oder zum wenigsten eine Färbung der Enden der Bacillen (Polfärbung) ein, die die tatsächlichen Verhältnisse verdeckt.

Die Färbung habe ich so vorgenommen, daß eine Spur Bacillen mit zwei oder drei Platinösen voll Beize (Pikrinsäure, Jodlösung, Sodalösung) auf einem Objektträger zusammengebracht wurde. Das Ganze setzt man, um eine gute Imprägnierung zu erzielen, für einige Minuten in eine feuchte Kammer; man kann sich diese mit Hilfe eines feuchten Filtrierpapierstückes und einiger kurzen Glasstäbchen aus jeder Petri-Schale herstellen. Nach einigen Minuten fügt man eine bis zwei Platinösen der verdünnten Farblösung zu, läßt diese noch einige Minuten in der feuchten Kammer einwirken, bedeckt dann mit einem Deckgläschen und untersucht bei möglichst starken Vergrößerungen.

Die Farblösungen wurden gewöhnlich in der Verdünnung von 0.01 g zu 10 ccm Wasser verwendet, die Pararosanilinbase wurde in gleicher Konzentration in absolutem Alkohol gelöst.

In der Regel tritt ein Niederschlag auf; erfolgt dies in stärkerem Maße, so wirkt er sehr störend; bei Verwendung der erwähnten starken Verdünnungen wird die Niederschlagsbildung jedoch vermieden.

Die Lugolsche Lösung wurde in der Verdünnung von 1:3 Wasser, die Pikrinsäure 0,1:10 Wasser, das Phenol zu 5 Proz. gelöst in Normal-lauge, Soda in 1-proz. Lösung angewandt.

Die Phenol-Fuchsinfärbung bietet keinerlei Vorteile vor den anderen Färbungen, sie ist wenig haltbar; ich habe daher später von ihr Abstand genommen.

Färbung von fixierten Präparaten.

Im allgemeinen habe ich hiermit keine besonderen Resultate erzielt.

In Betracht kommt hier besonders die Methode mit Viktoriablau B (Grübler). Das in gewöhnlicher Weise über der Flamme fixierte Trockenpräparat wird mit 1-proz. wässriger Lösung von Viktoriablau 3—5 Minuten lang gefärbt, dann abgespült, 1—2 Minuten mit Lugolscher Lösung gebeizt, dann mit 10-proz. Acetonalkohol differenziert, mit Wasser abgespült und mit verdünnter Fuchsinlösung nachgefärbt.

Die Entfärbung war jedoch so stark, daß die Körnchen nicht mehr hervortraten, und bei der Nachfärbung mit Fuchsin erfolgte eine diffuse Färbung des ganzen Bacillenleibes.

Die Naphtholblaufärbung gelang mir am fixierten Präparate ebensowenig wie am frischen. Auch Eisenberg hat sie nicht erhalten können.

Mit Karbolfuchsin unter Zusatz von gesättigter Aurantialösung und späterem Differenzieren in absolutem Alkohol trat eine völlige Entfärbung der Granula ein.

Bessere Resultate gibt die Methode mit starker Jodlösung (Jod 3, Jodkali 3, Wasser 20). In der von Eisenberg angegebenen Modifikation gelang es mir allerdings nicht, Erfolge zu erzielen. Besser erwies sich mir, die Bacillen mit der Jodlösung zusammen auf dem Objektträger zu verreiben und antrocknen zu lassen; dann fügt man, ohne mit Wasser abzuspülen, die verdünnte Farblösung (wässriges Fuchsin oder Resorcin-fuchsin) zu, läßt trocknen, fixiert in der Flamme und spült dann erst mit Wasser ab; eventuell kann man mit verdünnter Methylenblaulösung nachfärben.

Letzteres ist rätlich stets zu tun, um etwa eingetretene Mitfärbung des Bacillenleibes wieder verschwinden zu machen.

In gleicher Weise kann man verfahren, wenn man statt der starken Jodlösung verdünnte Lugolsche Lösung oder die besonders zu empfehlende Pikrinsäure benutzt.

Die Präparate dürfen, wenn sie aufbewahrt oder während längerer Zeit betrachtet werden sollen, nicht mit Cedernöl oder Kanadabalsam in Berührung kommen, da Entfärbung eintritt (dies ist der Fall auch mit Alkohol, Xylol, Chloroform, Terpentinöl).

Für eine kurze Untersuchung mag man dagegen ruhig das eingedickte Cedernöl direkt auf das Präparat bringen.

Das Nilblausulfat kann man in ähnlicher Weise anwenden. Man verreibt 2—3 Oesen Nilblausulfat mit etwas Bakterien, fügt 1-proz. Soda-lösung bis zur völligen Entfärbung (2—3 Oesen voll) zu, läßt antrocknen, fixiert, färbt eventuell mit etwas verdünnter wässriger Fuchsinlösung nach, spült mit Wasser ab, trocknet und untersucht.

Alle Färbungen am fixierten Präparate geben jedoch nur manchmal befriedigende Resultate. Mit denen am frischen Präparate sind sie nicht zu vergleichen und diese letzteren daher vorzuziehen.

Beschreibung der morphologischen Verhältnisse.

Die mit den erwähnten Methoden in Pestbacillen darstellbaren Gebilde sind äußerst kleine Körnchen.

Bei gut gelungener Färbung treten sie außerordentlich deutlich hervor. Sie sind leuchtend blau oder rot, je nach der verwendeten Farbe; sie sind intensiv gefärbt, während der übrige Zellleib ungefärbt ist.

Meist haben sie eine absolut regelmäßige, kugelförmige Gestalt, in anderen Fällen scheinen sie mehr oval zu sein. Es ist dann aber manchmal zweifelhaft, ob nicht eine Mitfärbung der zunächstliegenden Teile des Bakterienleibes statthat. Weitere Differenzierungen an den Körnchen selbst zu machen, war mir nicht möglich; sie stellen sich als durchaus homogene Gebilde dar.

Was die Lage der Körnchen im Leibe der Bacillen anlangt, so findet man sie am häufigsten am Ende desselben, und zwar glaube ich, als Norm annehmen zu dürfen, daß jeder Bacillus ein Körnchen an einem einzigen Pole besitzt.

Häufig findet man jedoch die Körnchen an beiden Polen, oder mehrere zusammen, durch kleine Zwischenräume getrennt an einem Pole. Manchmal kommt zu diesen endständigen Körnchen noch eines, das ungefähr in der Mitte der Längswand gelagert ist. Diesem mittleren Körnchen gegenüber liegt an der anderen Längswand hier und da noch eines. Es entspricht diese Stelle wahrscheinlich der späteren Querteilungswand.

Fast stets liegen die Gebilde der äußeren Zirkumferenz der Bakterien an, diese tritt deutlich konturiert hervor. Besonders das mittlere Körnchen ist wandständig. Nur sehr selten habe ich ein direkt im Zentrum des Bakterienleibes liegendes Körnchen finden können. Dasselbe ist dann stets nur sehr schwach und undeutlich tingiert und kleiner wie die übrigen.

Am besten eignen sich etwas gequollene größere Exemplare der Bacillen zur Betrachtung der oben erwähnten Verhältnisse. Bei der Kleinheit der Pestbacillen ist es ja schwierig, über die morphologischen Verhältnisse Klarheit zu bekommen, indessen findet man bei genauer Betrachtung und längerer Uebung in den meisten Präparaten Stellen, wo sich auch an kleinen Exemplaren die Körnchen nachweisen und studieren lassen.

Zudem kann man sich durch verschiedenes Einstellen des Tubus des Mikroskopes noch helfen. Größere Exemplare, die sich in jedem Präparate finden, dienen zur ersten Orientierung.

Der Zusatz von 1-proz. Sodalösung, Naphthollösung, auch von verdünnter Pikrinsäure und Jodlösung bedingt eine ziemliche Quellung der Bakterienleiber. Es schien mir, als ob diese Quellung keine allseitige, gleichmäßige sei und die Mikroben im Verhältnis mehr nach dem Längens als dem Breitendurchmesser zunähmen, so daß deutlich stäbchenförmige, nicht rundliche oder ovale, blasige Gebilde entstehen.

Am besten gelungen möchte ich die Färbung betrachten, wenn die Bacillen fast gar nicht gefärbt sind und nur die Umrisse deutlich konturiert, sowie die Körnchen leuchtend gefärbt und isoliert hervortreten. Um dies zu erzielen, verreibt man die Bakterien gut mit der Beize, und trägt dann eine Oese voll Farblösung nur in die Mitte des entstandenen Tropfens ein; man verreibt jedoch nicht, sondern läßt die Farbe von selbst nach den Rändern zu diffundieren. Beim Nilblausulfatverfahren werden sinngemäß die Bakterien in der Farbe verrieben und die Sodalösung in der Mitte des Tropfens zugesetzt. Man bekommt so schwächer und stärker gefärbte Stellen.

Etwaige Nachfärbungen mit Methylenblau nimmt man unter dem Mikroskope durch Zufließenlassen am Rande des Deckgläschens hervor.

An Bakterien, an denen eine leichte diffuse Färbung eingetreten ist, kann man um die Körnchen herum eine schmale, etwas hellere Zone bemerken, die den Farbstoff weniger imbibiert hat.

Sehr häufig tritt eine haubenförmige, stärker gefärbte Zone an dem dem Körnchen gegenüberliegenden Pole auf. Man muß sich sehr hüten, dies als ein Körnchen zu betrachten, besonders wenn es sich um sich bewegendende Bacillen handelt. Diese stellen sich oft auf das eine Ende und man glaubt dann zuerst ein Körnchen vor sich zu haben.

Diese haubenförmige Färbung der Protoplasmasubstanz entspricht nicht ganz dem, was man sonst unter Polfärbung der Pestbacillen versteht; diese letztere erstreckt sich über einen größeren Teil des Bacillenkörpers und geht allmählich in den ungefärbten mittleren Teil desselben über, sie ist demnach nicht so scharf umschrieben, wie die hier beschriebene haubenartige Färbung.

Eisenberg bildet ganz ähnliche Verhältnisse ab in seinen Figg. 10 und 12. Es handelt sich dort um 2 Trockenpräparate, die nach der Viktoriablaumethode, bezw. mit Karbolfuchsin und wässriger Aurantia gefärbt sind.

Auch Preisz beschreibt diese kappenartigen Bildungen bei Milzbrandbacillen, die in verdünnter Fuchsinlösung gefärbt sind. Er bringt sie in Verbindung mit der Sporenanlage (man vergl. seine Fig. 17, 28, 56, 57, ferner Fig. 19).

Manchmal läßt sich auch feststellen, daß die Polhaube kein einheitliches Gebilde ist, sondern aus mehreren nahe zusammenliegenden Körnchen besteht; dieselben sind durch eine feine, hellere Farbbrücke verbunden. Oft liegen auch 2 Körnchen dort, wo der abgerundete Pol in die Seitenwände übergeht; sind dieselben nun etwas größer und hat der Bacillenleib sich etwas tingiert, so daß zwischen beiden eine kurze Strecke etwas stärker gefärbten Protoplasmas liegt, so kann das Ganze wohl als haubenartige Bildung imponieren.

Preizz vermutet, daß diese seitwärts stehenden körnchen- oder zapfenartigen Bildungen häufig Querschnittsbilder eines Ringes darstellen.

Manchmal traten feine, linienförmige Zeichnungen auf, die längs oder quer das Bakterium durchlaufen. Es schien mir, als ob dieselben besonders häufig mit den mittelständigen Körnchen in Beziehung ständen, es erscheint daher die Vermutung gerechtfertigt, daß es sich dann um beginnende Teilungsvorgänge handelt.

Vorkommen der Körnchen.

Vor allem kann ich die Bemerkung Eisenbergs bestätigen, daß die Bacillen, die direkt aus dem Tierkörper stammen, keine Körnchen führen.

Impft man Meerschweinchen subkutan mit Pest, so enthalten Blut und vor allem die seröse Ausschwitzung in dem sulzigen Gewebe, das sich an der Injektionsstelle bildet, besonders wenn man größere Mengen Infektionsmaterial verwendet, Reinkulturen von Pestbacillen.

In diesen habe ich mit den oben erwähnten Methoden keine Körnchen nachweisen können¹⁾.

1) Ich habe kleine Mengen von Blut und seröser Flüssigkeit mehrere Tage in einer feuchten Kammer aufgehoben und mehrmals, jedoch mit negativem Erfolge, untersucht.

Beim Uebertragen der Bacillen aus dem Tierkörper auf künstliche Nährböden dauert es einige Zeit, bis die Körnchen auftreten. Pestbacillen wachsen ja auf künstlichen Nährböden anfangs sehr langsam. Es dauert im allgemeinen wenigstens 48 Stunden, bis man die Körnchen nachweisen kann, aber auch dann sind sie noch spärlich. Als Optimum habe ich ungefähr den 5. Tag gefunden. Man kann die Entwicklung der Körnchen beschleunigen, wenn man von der ersten Kultur möglichst bald eine zweite abimpft.

Pestbacillen lieben eine gewisse Feuchtigkeit des Nährbodens. Es scheint mir, daß auch die Körnchen auf einem feuchten Nährboden besser zum Vorschein kommen. Sehr schön lassen sie sich in Bouillonkulturen nachweisen, besonders in Bacillen, die an der Oberfläche gewachsen sind, wie das manchmal dort der Fall ist, wo die Kulturflüssigkeit die Wand des Kulturröhrchens berührt. Ferner findet man die Körnchen in Kulturen auf Kartoffeln und Möhren; ebenso gelang mir das in Pestbacillen, die in Katzenserum kultiviert waren, in Bouillon oder auf Agar, die 1-prom. Ovocithin (Merck) enthielten. In den Bacillen aus dem Serum lassen sich die Körnchen etwas schwer färben, das Eindringen des Farbstoffes findet entschieden nicht so leicht statt wie in anderen Flüssigkeiten.

Die Körnchen fanden sich bei allen diesen Nährböden reichlich und in fast allen Exemplaren.

Nach einiger Zeit scheinen die Körnchen jedoch wieder seltener zu werden.

Verschiedene Einflüsse mögen hier zur Geltung kommen, nämlich:

- 1) Licht,
- 2) Temperatur,
- 3) Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens,
- 4) allmähliche Erschöpfung der zum Wachstum nötigen Substanzen durch die Vermehrung der Bacillen.

Bezüglich des Lichtes möchte ich eine sichere Entscheidung nicht abgeben; jedoch ist es mir mehrmals aufgefallen, daß in Kulturen, die bei einer Untersuchung am Morgen reichliche Körnchen zeigten, dieselben abends spärlicher zu finden waren, nachdem die Röhrchen den Tag über in der Sonne gestanden hatten.

Einen Einfluß der Temperatur habe ich nicht bemerken können innerhalb der Grenzen, in denen ich dies hier untersuchte. Bei Temperaturen zwischen 18 und 30° fand eine normale Entwicklung der Körnchen statt; im Brutofen bei 37° bestehen besonders bei frischen Abimpfungen günstige Verhältnisse, bei längerem Aufenthalt der Kulturen bei dieser Temperatur vermindern sich allmählich die Körnchen, was aber wohl mehr durch die Erschöpfung des Nährbodens und die Verminderung der Fortpflanzungstätigkeit bedingt ist.

Feuchtigkeit ist ein günstiger Faktor.

Im allgemeinen kann man sagen, daß alles, was der Entwicklung der Bakterien förderlich ist, auch das Auftreten der Körnchen begünstigt. Wenn sich die Bakterien über den ganzen Nährboden hin ausgebreitet haben, beginnt allmählich auch eine Verringerung der Körnchen einzutreten, dieselbe setzt demnach ein, wenn das Optimum der Entwicklung erreicht ist. Mit zunehmender Erschöpfung des Nährbodens hört auch die Produktion der Körnchen auf; man findet sie ja noch in alten Kulturen, allein ihre Zahl ist mit der in solchen, welche erst in der Entwicklung begriffen sind, nicht zu vergleichen. Am besten sieht man sie noch in alten Bouillonkulturen, besonders in oberflächlichen Pilzrasen.

Bedeutung der Körnchen.

Von verschiedenen Autoren wurden schon Gebilde beobachtet und beschrieben, die den eben geschilderten analog oder ähnlich sind.

Es lassen sich hierbei folgende Ansichten klassifizieren:

1) Die Granula sind in Zusammenhang zu bringen mit der Sporenbildung. Bunge deutet sie als „Vorsporen“, er beschreibt säurefeste Kügelchen in Milzbrandbacillen, die das Material zur Sporenbildung abgeben sollen. Dieselben sind jedoch durch ein anderes Färbeverfahren nachweisbar, besitzen demnach eine andere chemische Struktur und entsprechen auch nach ihrer Lage nicht den von mir bei Pestbacillen geschilderten.

Ilkewicz beschreibt Sporen in Glyzerinagarkulturen von Milzbrandbacillen, in denen sich Kerne durch ein besonderes Färbeverfahren (Osmium, Tannin) sichtbar machen lassen. Es handelt sich hier um schwarz gefärbte Bacillenfäden mit runden und ovalen, hellen Flecken; in letzteren finden sich oft ein oder zwei dunkle Kerne.

Fedorowitsch faßt die Körnchen, die er auch an anderen Bacillen mit einer modifizierten Gramschen Methode färben konnte (z. B. bei *Megatherium*, Hühnercholera, *Pyocyaneus*, Typhus, Coli, Mäuse-septikämie, Cholera), als eine weniger entwickelte Art von Dauerformen auf. Er teilt sie in Körnchen 1., 2. und 3. Ordnung ein und nennt sie „Protosporen“.

Růžicka beschreibt Gebilde, die er Sporoidkörper nennt. Ihre Bildung ist als eine abnorme Entwicklung jener Substanz zu bezeichnen, welche auch die Sporen bildet, wenn das Bakterium sich in anderen, günstigeren Lebensbedingungen befindet. Sie lassen sich darstellen mit verdünnter, wässriger Fuchsinlösung zusammen mit konzentrierter wässriger Sublimatlösung, auch mit nachfolgender Einwirkung von Lugolscher Lösung, ebenso mit Lugolscher Lösung allein. Ferner geben sie die Naphtholblaureaktion (Dimethylparaphenylendiamin und α -Naphthol). Substantiv färben die Sporoidkörper sich weder mit basischen, noch mit sauren Farbstoffen, weder vital, noch nach Fixation. Sie sind kein Stoffwechselprodukt im Sinne von Reservestoffen. Sie bestehen vielmehr aus einer dem Linin analogen Substanz.

2) Die Körnchen sind Zellkerne mit Chromatinstruktur. Sjöbring beschreibt bei Milzbrand- und Heubacillen ovale, mittelständige Vakuolen mit distinkt färbbarem, körnigem Inhalt; dieselben bleiben bei Färbung mit Karbolmethylenblau ungefärbt. Krompecher beschreibt ebenfalls farblose Vakuolen mit körnigem, metachromatisch sich färbendem Inhalt. In dem stark gequollenen Bacillus sind 2 oder mehrere, oft zahlreiche Körner enthalten, die sich mit Karbolmethylenblau intensiv rot färben. Sie sind hitzebeständig. Indessen glaubt Krompecher auch, ohne es sicher zu behaupten, daß diese metachromatischen Körnchen in irgendwelcher Beziehung zur Sporenbildung stehen.

Preisz nimmt an, daß die Körnchen, die sich in lebenden jungen Milzbrand- (auch anderen) Bacillen mit verdünnter Fuchsinlösung intensiv färben lassen, die tatsächlichen Kerne des Milzbrandbacillus sind. Sie sind fast ausnahmslos im peripherischen Plasma, an der Zellmembran, häufig in einer „Ecke“ der Zelle, d. h. nächst der Querwand gelegen. In je einer Zelle findet man ein oder zwei, selten mehr Körnchen.

Die Kernnatur dieser Gebilde folgert Preisz aus folgenden Gründen:

a) Sie haben eine ziemlich konstante Größe und eine regelmäßige runde Gestalt.

b) Sie stehen in enger Beziehung zu den Scheidewänden, die den Zelleib teilen und mit denen, die die Sporenanlage gegen die Mutterzelle abgrenzen.

c) Bereits in den jüngsten Sporenanlagen, sowie später noch in den fast ausgewachsenen Vorsporen läßt sich ein solcher Kern nachweisen. Derselbe geht aus einem Kern der Zelle hervor, was gefolgert werden kann:

- 1) aus der Aehnlichkeit beider;
- 2) daraus, daß Zellen mit Sporenanlage häufig keine Kerne haben;
- 3) aus der auffallenden Aehnlichkeit, die zwischen einer durch den Zellkern ziehenden jungen Querscheidewand und einer gleichfalls durch einen solchen Körper ziehenden jungen Wand der Sporenanlage besteht.

Die Körnchen ließen sich außer in Milzbrandbacillen noch nachweisen in *Bac. cohaerens*, *tetani* und einem dem *Bac. subtilis* sehr ähnlichen Bakterium. Ich verweise hier besonders auf die Fig. 19, 25, 26, 200, 202, 203, 204, 217 und 218, die mit den meinigen große Aehnlichkeit zeigen.

An Methylenblaupräparaten sind sie nur selten und dann nur sehr undeutlich sichtbar; sie sind daher auch von den Schottelius-Nakanishischen kernartigen Gebilden nach Färbungsvermögen, wie auch nach Größe, Form und Lagerung gänzlich verschieden, ebenso auch von den Babes-Ernstschen Körnchen; sie sind mit Methylenblau nach Löffler nicht schwarzblau färbbar, ferner sind sie in allen Kulturen stets vorhanden, während die Babes-Ernstschen Körnchen in Milzbrandkulturen häufig gänzlich fehlen.

Arthur Meyer konnte ebenfalls durch verschiedene Färbemethoden, besonders aber durch Formolfuchsin, kleine Körnchen sichtbar machen, die er als Zellkerne ansieht. Jedenfalls seien es keine ergastischen Gebilde. Sie färben sich nicht mit Methylenblau, auch nicht mit Sudan.

3) Die Körnchen sind identisch mit denen, die als Fetteinschlüsse von A. Meyer, Gottheil, Grimme, Ellis und namentlich von Eisenberg beschrieben sind.

4) Sie sind Sauerstoffüberträger, also gleichsam die Atmungsorgane, Lungen der Bakterien. Dietrich und Liebermeister glaubten, dies besonders aus der Naphtholblaureaktion schließen zu müssen.

Zu No. 1. Bei Pestbacillen ist noch nie Sporenbildung im eigentlichen Sinne nachgewiesen worden. Auch ich habe in meinen Präparaten niemals das Auftreten von solchen nachweisen können. Ebensowenig habe ich irgendeinen Zusammenhang der Körnchen mit der Bildung von sporenähnlichen Gebilden nachweisen können. Es erübrigt sich also wohl, auf die sub 1 angeführten Ansichten weiter einzugehen.

Zu No. 2. Etwas schwieriger ist es, zu entscheiden, ob es sich nicht um kernartige Gebilde handelt. Ich habe zu diesem Behufe noch versucht, Färbungen mit Methylenblau zu erzielen. Verwendet wurde Methylenblau medic. pur. (Grübler) in 0,1-proz. Lösung, ferner eine verdünnte alkalische Methylenblaulösung nach Romanowsky-Nocht, sowie eine Mischung dieser letzteren mit einer 0,1-proz. Eosinlösung (wasserlöslich, Höchst); von der Eosinlösung wurde nur wenig (ca. $\frac{1}{4}$ des Volumens der Methylenblaulösung) verwendet, jedenfalls nicht so viel, um eine starke Ausfällung des Methylenazurs zu bewirken. Die Lösungen müssen alle in so starken Verdünnungen angewandt werden, um störende

Mitfärbungen zu vermeiden. Soweit es sich bei der Kleinheit des Objektes mit Sicherheit feststellen läßt, werden durch diese Methoden die beschriebenen Körnchen nicht gefärbt. Es färben sich hauptsächlich die Polgenden der Bacillen mehr oder minder, jedoch mehr diffus, nicht so abgegrenzt, wie bei den oben angewandten Verfahren. Auch bandförmige Zeichnungen kommen in den mittleren Partien der Mikroben zur Darstellung, wobei die Enden dann ungefärbt bleiben, ferner feine Linien, die den Bacillenleib der Quer- oder auch der Längsrichtung nach durchziehen.

Körnchenförmige Gebilde treten zwar ebenfalls auf; jedoch liegen dieselben fast stets zentral. Sie haben eine mehr unregelmäßige Gestalt; selten sind sie so kreisrund wie die eben beschriebenen, auch sind sie meist nur schwach gefärbt und sehr klein. Am besten hält man sich zum genaueren Studium dieser Gebilde an die in fast jedem Präparate enthaltenen größeren, etwas gequollenen Exemplare. Bei den ganz kleinen Bacillen ist man wegen der Mitfärbung der polaren chromatischen Substanz Täuschungen ausgesetzt.

Ich verweise hier nochmals auf die Aehnlichkeit meiner Bilder mit den von Preisz gezeichneten. Auch er konnte mit Methylenblau keine Färbung erzielen und betont den Unterschied zwischen den von ihm dargestellten „Kernen“ und den von Schottelius und Nakanishi als solche bezeichneten Gebilden.

Die Aehnlichkeit mit den Befunden von Preisz ist eine so große, daß ich nicht anstehe, die von mir studierten Körnchen in eine Reihe zu stellen mit den von Preisz abgebildeten „Kernen“. Die Gründe, die von diesem Autor für die Kernnatur der Körnchen angeführt werden, habe ich schon oben erwähnt. Am wichtigsten scheint mir zu sein, daß dieselben bei der Teilung und Fortpflanzung der Bakterienzelle eine aktive Rolle spielen. Eine eigentliche Teilung des „Kernes“ ist von Preisz zwar weder gesehen, noch abgebildet worden. Er folgert nur aus der Einschnürung derselben, daß eine Teilung auch ohne gleichzeitige Bildung von Scheidewänden erfolgen kann. Dagegen läßt sich aus mehreren Abbildungen (so 8, 12, 13) ersehen, daß die Querwand, welche das Bakterium teilt, mit den mittelständigen Körnchen in Verbindung steht, von denselben auszugehen scheint. Ich habe nun leider so deutliche Bilder nicht zu Gesicht bekommen, immerhin fiel es mir auf, daß an mehr stäbchenförmigen, langen Exemplaren die mittelständigen Körnchen meist dort lagen, wo sich eine seitliche Einbuchtung oder Einschnürung des Bakteriums befand, und es machte mir stets den Eindruck, als ob dort eine Abtrennung später statthaben würde.

Auch Preisz fand häufig eine hellere Zone um die Körnchen herum angedeutet.

Zu No. 3 will ich hier nur kurz hervorheben, daß ich nicht glaube, daß die Granula in Pestbacillen mit den Eisenbergischen Fetteinschlüssen identisch sind, obwohl sie sehr viele Farbreaktionen mit jenen gemeinsam haben. Die äußeren Gründe will ich später auseinander setzen, wenn ich die chemische Natur derselben erörtern werde.

Zu No. 4. Die Reaktion mit Naphtholblau ist mir, wie schon erwähnt, nie gelungen, weder in dem frisch dem Tierkörper entnommenen, noch in den längere Zeit auf Agar kultivierten Bacillen. Dieselbe wurde ausgeführt mit 1-proz. wässrigen Paraphenylendiaminchlorhydrat (Grübler) und 1-proz. alkalischer α -Naphthollösung (gelöst in 1-proz.

Soda), allein und unter Zusatz von etwas schwacher Ferricyankalium-Lösung. Als Sauerstoffübertäger im Sinne von Dietrich und Liebermeister sind demnach die Körnchen nicht anzusehen.

Chemische Zusammensetzung der Körnchen.

Aus Pestbacillen läßt sich durch Alkohol sowie Chloroform in geringer Menge eine Substanz extrahieren, die ich als fettartig vermutete. Ich hatte aus diesem Grunde unternommen, mich mikroskopisch zu vergewissern, ob sich wirklich eine solche Substanz morphologisch charakterisiert nachweisen ließe. Ich vermutete, daß dieselbe in dem Teil zu finden sei, der bei der gewöhnlichen Färbung mit wässrigem Methylenblau u. dgl. anderen Farbstoffen ungefärbt bleibt, also in der Regel in den mittleren Partien. Bereits vor dem Erscheinen der Eisenberg'schen Arbeit hatte ich versucht, mit den in der mikroskopischen Technik verwandten Fettfärbungsmitteln zum Ziele zu kommen. Geprüft wurde besonders Sudan III (Grübler) und Scharlach R (Grübler) in alkoholischer Lösung allein, sowie unter Zusatz von Alkali (nach Herxheimer). Eine Färbung ist mir jedoch nie gelungen, auch nicht in Spuren. Die Bacillen blieben in toto ungefärbt, auch wenn ich den Farbstoff in einer feuchten Kammer stunden- und tagelang einwirken ließ, auf frische sowohl wie auf fixierte Präparate; ebensowenig erhielt ich eine Färbung mit dem von Herxheimer empfohlenen Indophenolblau (Grübler).

Ich bemerke hier, daß es auch Eisenberg nicht gelungen ist, mit den eigentlichen Fettfarbstoffen Sudan III und Scharlach R eine Färbung seiner Granula zu erzielen, ebensowenig mit Alkanin, Cyanin, Anilingelb, Sudan II, Janusrot, Indoin; nur Indophenolblau gab eine wenig haltbare Färbung.

Buttergelb (Dimethylamidoazobenzol) gab nur eine schwach gelbliche Färbung, Spritzgelb (Fettgelb), Sudan I gaben positive Bilder, die besten Resultate erzielte er mit Sudanbraun und Manchesterbraun. Diese letzteren sind jedoch keine Reagentien ausschließlich auf Fettsubstanzen, sie färben auch andere protoplasmatische Teile. Eine Nachfärbung mit Fuchsin- und Methylenblaulösung, die diese Färbungen deutlicher macht, hat die gleiche Wirkung, wie bei den anderen Methoden, da ein Teil des Farbstoffes in die bereits angefärbten Körnchen oder deren supponierte Hülle hineindiffundiert, speziell ist dies bei dem Fuchsin der Fall.

Ich habe daher versucht, noch auf einem anderen Wege zum Ziele zu gelangen, indem ich die Bacillen fettlösenden Substanzen aussetzte. Einige Agarkulturen wurden sowohl mit absolutem Alkohol wie mit Chloroform übergossen, diese Flüssigkeiten nach einigen Stunden abpipettiert und durch frische ersetzt, hierauf das Ganze einige Tage ruhig bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. In gleicher Weise wurde verfahren mit Bacillen, die aus einer Bouillonkultur abzentrifugiert waren. Bevor die Agarkulturen der erwähnten Behandlung unterworfen wurden, waren sie auf das Vorhandensein der Körnchen in den Bacillen geprüft worden.

Bezüglich der mit Alkohol behandelten Kulturen läßt sich sagen, daß sich die Körnchen mit Nilblausulfat sowie mit Resorcinfuchsin und Sodalösung noch nachweisen ließen. Die Farblösungen sind hier noch etwas zu verdünnen, da leicht störende Niederschläge auftreten. Zudem

werden die Bacillen durch die Alkoholbehandlung für diffuse Protoplasmafärbung mehr empfindlich. Ich hatte ferner den Eindruck, als ob die Körnchen manchmal etwas kleiner geworden wären. Die Bacillen wurden nicht am Objektträger angetrocknet, sondern direkt in ein kleines Tröpfchen Farblösung bzw. Sodalösung gebracht. Antrocknen gibt störende Färbungen. In den mit Chloroform behandelten Kulturen waren die Körnchen nur ausnahmsweise nachzuweisen. Ich vermute, daß die Bacillen, die dieselben zeigten, aus den tieferen Teilen der Kultur stammten und daher dem Einflusse des Lösungsmittels nicht so zugänglich waren. Nach Dietrich und Liebermeister wird die Färbung der Milzbrandgranula durch fettlösende Agentien allerdings nicht alteriert.

Es ist daher wohl die von Preisz geäußerte Ansicht die wahrscheinlichste, daß es sich um eiweißartige Substanzen handelt. Im übrigen wurde auch von anderen die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um eine eiweißartige Grundsubstanz handle, in die das Fett eingelagert wäre.

Bezüglich der in Pestbacillen gefundenen Granula möchte ich aber doch glauben, daß das Vorhandensein von Fett in denselben durch keine Reaktion nachgewiesen, speziell durch die sonstigen Fettfärbemethoden nicht dargestellt worden ist.

Die Körnchen stehen wahrscheinlich in einem gewissen Zusammenhange mit den Wachstumsbedingungen der Bakterien, vielleicht auch mit den Teilungsvorgängen derselben. Im Tierkörper nicht vorhanden, ist ihr Auftreten an die künstlichen Nährböden gebunden und sie finden sich dort zur Zeit der stärksten Entwicklung, um bei allmählicher Erschöpfung des Substrates nach und nach wieder zu verschwinden. Am längsten halten sie sich in den Bouillonkulturen.

Vorkommen in Involutions- und Degenerationsformen.

Der Pestbacillus zeigt eine gewisse Neigung, Involutionsformen zu bilden, so schon im Tierkörper, wie auch auf künstlichen Nährböden, besonders auf gewöhnlichem Nähragar, der 3 Proz. Kochsalz enthält. Diese Formen nehmen oft außerordentlich große Dimensionen an; es schien mir daher möglich, an diesen die Körnchen leichter studieren zu können.

In der Tat findet man dieselben auch hier, manchmal sogar sehr reichlich, allein sie unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe fast gar nicht von den in den kleinen Exemplaren gefundenen. Sie liegen auch hier inmitten einer schmalen, etwas helleren Zone an einem Pole, manchmal auch in der Mitte an der Stelle einer künftigen Abschnürung, die schon durch eine beiderseitige Einziehung angedeutet war. Es schien mir zuweilen, als ob die Körnchen weniger leuchtend rot hervorträten und den Farbstoff nicht mit der gleichen Intensität imbibierten.

Sie verschwinden auch in diesen Kulturen ziemlich schnell wieder. Die Entstehung der Involutionsformen dürfte in einer gesteigerten Wachstumsenergie, parallellaufend mit einer reichlichen Aufnahme von Wasser, ihren Grund haben. Dieses abnorme Wachstum erreicht auch um so schneller sein Ende, daher auch das baldige Verschwinden der Granula.

Schlußfolgerungen.

In Pestbacillen lassen sich kleinste Körnchen darstellen, die den in Milzbrandbacillen beschriebenen und als „Kerne“ gedeuteten in Form, Lage und Vorkommen außerordentlich ähnlich und voraussichtlich mit diesen identisch sind.

Dieselben sind aller Wahrscheinlichkeit nach keine Fetteinschlüsse.

Ihr Auftreten ist bedingt durch Züchtung auf künstlichen Nährböden; im Tierkörper sind sie nicht nachweisbar.

Sie sind am zahlreichsten vorhanden, wenn sich die Kulturen auf dem Höhepunkte ihrer Entwicklung befinden.

Literatur.

- 1) Schottelius, M., Beobachtung kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 4. 1888.)
- 2) Klein, L., Botanische Bakterienstudien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 11. 1889.)
- 3) Sjöbring, N., Ueber Kerne und Teilungen bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 11. 1892.)
- 4) Ilkewicz, W., Ueber die Kerne der Milzbrandsporen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 15. 1894.)
- 5) Bunge, Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. der Med. Bd. 13. 1895.)
- 6) Meyer, A., Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien etc. (Flora. Bd. 84. 1897.)
- 7) Růžicka, V., Zur Frage der inneren Struktur der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 23. 1898.)
- 8) Meyer, A., Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. 86. 1899.)
- 9) Nakanishi, K., Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. 1901.)
- 10) Krompecher, E., Untersuchungen über das Vorkommen metachromatischer Körnchen bei sporentragenden Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. 1901.)
- 11) Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901.)
- 12) Fedorowitsch, Ueber die Körnigkeit der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902.)
- 13) Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
- 14) Dietrich u. Liebermeister, Sauerstoffübertragende Körnchen in Milzbrandbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
- 15) Ellis, D., Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903.)
- 16) Růžicka, Vlad., Ueber die biologische Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhalts. (Arch. f. Hyg. Bd. 47. 1903.)
- 17) Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.)
- 18) Růžicka, Vlad., Weitere Untersuchungen über den Bau und die allgem. biolog. Natur der Bakterien. (Ibid. Bd. 51. 1904.)
- 19) — —, Depressionszustände und Regulationsvorgänge bei dem Bact. anthr. (Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907.)
- 20) Eisenberg, Ph., Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909.)

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. 72-stündige Agarkultur mit Nilblausulfat und Sodalösung behandelt.
 1) Polständige Körnchen in hellerer Zone gelegen,
 2) mittelständige Körnchen an Einschnürungsstellen gelegen. (Spätere Teilung?),
 3) haubenartige Polfärbung.
 Fig. 2. 7-tägige Agarkultur mit verdünnter Pikrinsäurelösung und 0,1-proz. wässriger Fuchsinlösung (F. zur Bakterienfärbung-Grübler), 1—3 wie Fig. 1.
 4) zwei, 5) mehrere zusammenliegende polständige Körperchen, die haubenförmige Färbung vortäuschen können.
 Fig. 3. Bouillonkultur mit verdünnter Lugolscher Lösung und Resorcinfuchsin (nach Weigert, Grübler).
 Fig. 4. Agarkultur mit 1-proz. Sodalösung und wässrigem Fuchsin.
 Fig. 5. Mit Alkohol mehrere Tage behandelte Agarkultur mit 1-proz. Sodalösung und Resorcinfuchsin behandelt.
 Fig. 6. Die gleiche Kultur mit Nilblausulfat und 1-proz. Sodalösung behandelt.
 Fig. 7. Kultur auf 3 Proz. Kochsalz enthaltendem Agar, Involutionsformen (verdünnte Pikrinsäure und Resorcinfuchsin).

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen der biochemischen Eigenschaften des *Bacillus osteomyelitis* Henke mit denen des *Staphylococcus aureus*, *citreus* und *Bact. coli commune*.

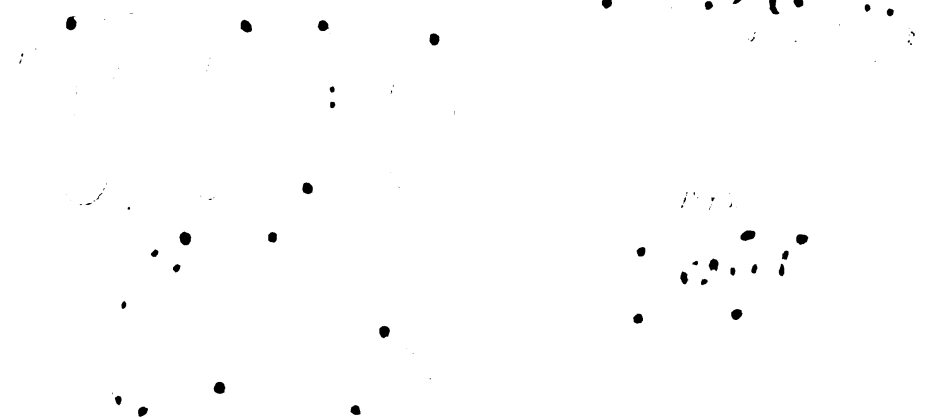
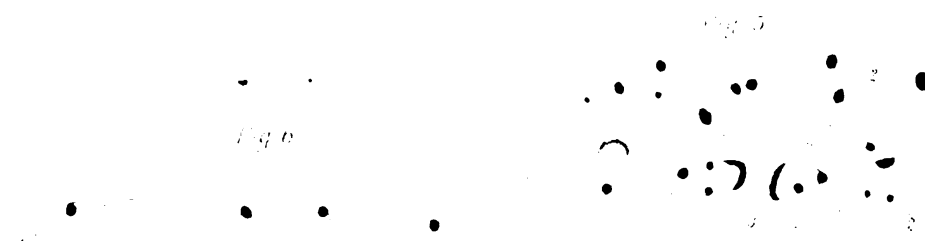
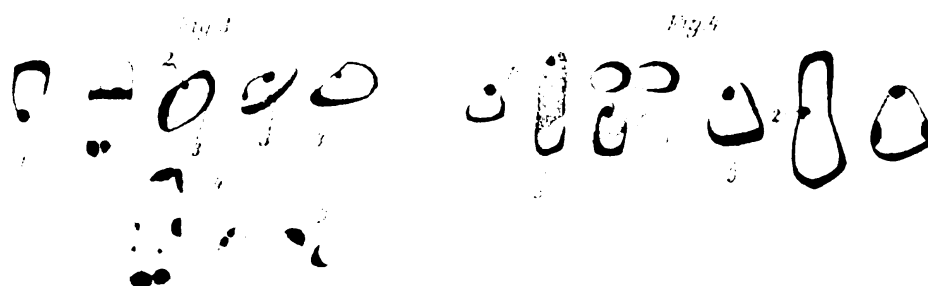
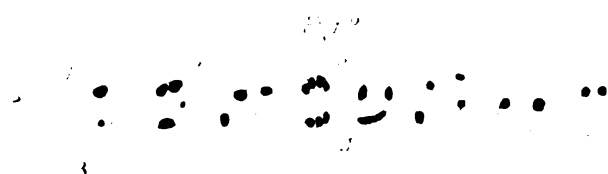
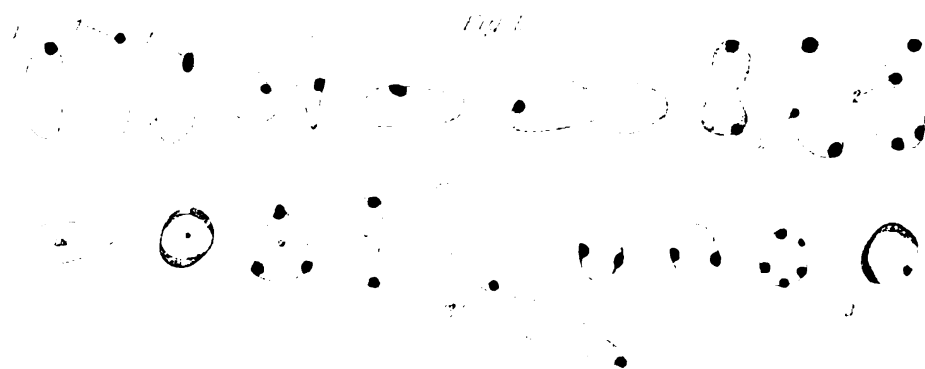
[Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Von D. Gleckel.

Der Zweck unserer Untersuchung war, die biologischen Eigenschaften des von Dr. A. Henke (1) im Jahre 1903 in unserem Laboratorium aus 5 akuten Fällen von Osteomyelitis isolierten *Bac. osteomyelitis* im Vergleich mit *Staphylococcus aureus* und *citreus*, sowie *Bact. coli commune*, die Beziehungen zum Knochen und den Biochemismus der angeführten Bakterien näher kennen zu lernen.

Prof. Stoklasa (2) hat vor vielen Jahren über den Einfluß einiger Bakterien auf die Knochen und das Vermögen, gewisse Bestandteile derselben, Phosphor und andere verschiedene Stickstoffarten in Lösung überzuführen, sehr wertvolle Resultate erhalten. Die von ihm angegebene Stickstoffklassifikation und Bestimmungsmethodik ist auch von uns eingehalten worden. Vor kurzem hat Frau Manoiloff-Grigorieff (3) kurz über das von Henke isolierte Stäbchen berichtet. Die Resultate unserer Versuche sind in Tabellen dargestellt, welche über die verlaufenen biochemischen Prozesse eine vollständige Uebersicht geben.

Als Nährböden bedienten wir uns der Bouillon vollständig frischer Pferdeknochen mit oder ohne Zusatz von Knochenmehl und Glukose einerseits, andererseits des Calciumkarbonats als Neutralisationsmittel. Alle Kulturen wurden in Literkolben bei 37° C gezogen, wobei die Luft aus den für die Anaërobiose bestimmten Kolben durch Wasserstoff verdrängt und dieselben mit Quecksilberverschluß versehen wurden. Bei der Glukose wurde der genaue Gehalt derselben bestimmt und alle Versuche in vollständig gleicher Weise angestellt. In den Nährböden wurden vor und nach dem Versuche folgende Bestimmungen vorge-



nommen: Stickstoffgesamtmenge der Diamine durch Fällung derselben mit Phosphorwolframsäure, Amidstickstoff mit MgO nach der Methode von Nencki und Zaleski (4), der Monoamine, welche aus der Differenz der Gesamtmenge und der Amide wie Diamine berechnet wurden, die Gesamtmenge des Phosphors nach Neumann, des in anorganischer Verbindung vorhandenen nach Stutzer (5), des organischen aus der Differenz dieser beiden Zahlen und Glukose nach Allihn.

In den Versuchskolben mit Knochenmehl und Calciumkarbonat wurde zur Kontrolle in den Filtrerrückstand der Phosphor und das Calcium bestimmt. Das Knochenmehl bestand aus 3,90 Proz. Fett, 1,6 Proz. Stickstoff, 31,46 Proz. Calcium, 30,09 Proz. P_2O_5 , von dem 28,82 Proz. dem anorganischen und 1,27 Proz. dem organischen angehörten. Die Zahl der Serien betrug 8 (A, B, C, D, E, F, H, K), die der Versuche in jeder Serie 4, entsprechend den 4 Bakterienarten, mit Ausnahme der Serie A, welche 7 Versuche in folgender Reihenfolge zählte:

- 1) *Staphylococcus aureus*;
- 2) " *citreus*;
- 3) *Bacterium coli commune*;
- 4) *Bacillus osteomyelitis*;
- 5) " " + *Staphylococcus aureus*;
- 6) " " + " *citreus*;
- 7) " " + " *Bact. coli comm.*

Tabelle I.

No. der Kolben	Nährböden	5 Tage	10 Tage	15 Tage
1	Stoklasa	osteomyel.	osteomyel.	} Kein Wachstum
2		"	"	
3		"	"	
4		"	"	
1	Knochenbouillon	osteomyel.	} nicht untersucht	osteomyel.
2	mit	" + St. aur.		"
3	Glukose	" + B. coli		B. coli + osteomyel.
4		"		
1	Knochenbouillon	osteomyel.	osteomyel.	osteomyel.
2	ohne	"	"	St. aureus
3		"	"	osteomyel.
4	Glukose	" + B. coli	B. coli	B. coli

No. der Kolben	Nährböden	20 Tage	25 Tage	30 Tage
1	Stoklasa	—	—	—
2		—	—	—
3		—	—	—
4		—	—	—
1	Knochenbouillon	osteomyel.	osteomyel.	osteomyel.
2	mit	"	"	} Kein Wachstum
3	Glukose	B. coli (?)	"	
4				
1	Knochenbouillon	} nicht untersucht	osteomyel.	Kein Wachstum
2	ohne		St. aureus	St. aureus
3			osteomyel.	Kein Wachstum
4	Glukose		B. coli	B. coli

Tabelle II.

A	Anaerobiose Knochenbouillon, Knochenmehl, Glukose, 126 Tage	Stickstoffgesamtmenge und Berechnung in Prozenten				P ₂ O ₅ Gesamt- menge im Filtrat	P ₂ O ₅ Aus d. Knochenm. in Lösung übergegang.	Ca Gesamt- menge	Ca in Lösung über- gegangen	Glukose zersetzt in Prozenten	Säure- grad ent- sprechend N/10 KHO auf 100 cem
		Gesamt- menge	Amid- stickstoff	Diamino- stickstoff	Mono- amino- stickstoff						
A	Staphyl. aureus	Nach dem Versuch kein Wachstum 0,57456	0,07182 12,73	0,40432 71,71	0,08778 15,56	0,67457	+ 0,53762	0,53086	+ 0,33416	91,34	50
		Vor dem Versuch 0,6510	0,0504 8,29	0,5068 83,42	0,0504 8,29	0,13695	—	0,19670	—	—	—
	Staphyl. citreus	Nach dem Versuch kein Wachstum 0,44083	0,03226 7,23	0,3494 78,32	0,0645 14,46	0,6427	+ 0,51590	0,58520	+ 0,3947	90,90	52
		Vor dem Versuch 0,4816	0,0392 7,44	0,4088 77,66	0,0784 14,90	0,1268	—	0,1905	—	—	—
	B. coli commune	Kein Wachstum 0,59052	0,06916 12,02	0,41028 71,33	0,09576 16,65	0,4481	+ 0,31115	0,7219	+ 0,5252	100	30
		Vor dem Versuch 0,6510	0,0504 8,29	0,5068 83,42	0,0504 8,29	0,13695	—	0,1967	—	—	—
	B. osteomyel.	Wachstum nach dem Versuch 0,57456	0,05922 10,76	0,35795 65,08	0,1330 24,16	0,41479	+ 0,27784	0,54915	+ 0,35245	97,45	30
		Vor dem Versuch 0,6510	0,0404 8,29	0,5068 83,42	0,0504 8,29	0,13695	—	0,1967	—	—	—
	St. aureus + B. osteomyel.	Kein Wachstum 0,58217	0,0747 12,94	0,44307 76,79	0,05925 10,27	0,41528	+ 0,23523	0,4013	+ 0,2744	100	35
		Vor dem Versuch 0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0784 12,47	0,18005	—	0,1269	—	—	—
	St. citreus + B. osteomyel.	Kein Wachstum 0,57904	0,05001 8,23	0,4527 74,45	0,10528 17,32	0,29563	+ 0,11558	9,55814	+ 0,23124	100	17,5
		Vor dem Versuch 0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0784 12,47	0,18005	—	0,1269	—	—	—
	B. coli comm. + B. osteomyel.	Kein Wachstum 0,73416	0,0266 3,59	0,64904 87,78	0,06384 8,63	0,2505	+ 0,1161	0,24130	+ 0,07620	100	24
		Nach dem Versuch 0,7560	0,0420 5,40	0,6216 79,86	0,1148 14,74	0,1344	—	0,1651	—	—	—

Tabelle III.

	Anärobiose Knochenbouillon, Knochenmehl, Glukose 87 Tage	Stickstoffgesamtmenge und Berechnung in Prozenten			P ₂ O ₅ Gesamt- menge im Filtrat	P ₂ O ₅ in Lösung über- gegangen	Ca Gesamt- menge	Ca in Lösung über- gegangen	Glukose zersetzt in Prozenten	Säure- grad ent- sprechend N/10 H ₂ SO ₄ auf 100 ccm
		Gesamt- menge	Amid- stickstoff	Diamino- stickstoff	Mono- amino- stickstoff					
B	Staphyl. aureus	Wachstum nach dem Versuch	0,28812	0,3293 11,65	0,22775 80,60	0,02195 7,75	0,2987	+ 0,2004	73,93	32
		Vor dem Versuch	0,3255	0,0252 8,29	0,2534 83,42	0,0252 8,29	0,0983	—	—	—
	Staphyl. citreus	Wachstum nach dem Versuch	0,3198	0,02755 8,14	0,2285 73,73	0,06115 18,13	0,58522	+ 0,52177	90,70	16
		Vor dem Versuch	0,3325	0,0168 5,35	0,2583 82,19	0,0392 12,47	0,06345	—	—	—
	B. coli commun.	Wachstum nach dem Versuch	0,2975	0,0283 9,11	0,24998 80,52	0,0322 10,37	0,59690	+ 0,53355	83,92	18
		Vor dem Versuch	0,3325	0,0168 5,35	0,2583 82,19	0,0392 12,47	0,06345	—	—	—
	B. osteomyel.	Wachstum nach dem Versuch	0,3118	0,03225 9,49	0,2526 74,30	0,05510 16,21	0,24384	+ 0,18039	71,75	36
		Vor dem Versuch	0,3325	0,0168 5,35	0,2583 82,19	0,0392 12,47	0,06345	—	—	—
C	Staphyl. aureus	Nach dem Versuch kein Wachstum	0,5846	0,04032 7,21	0,4586 81,97	0,0605 10,82	0,29671	+ 0,11666	0,92	17
		Vor dem Versuch	0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0764 12,47	—	—	—	—
	Staphyl. citreus	Kein Wachstum	0,5831	—	0,4390 24,53	0,14268 75,47	0,52190	+ 0,38495	17,84	26
		Vor dem Versuch	0,6510	0,00504 8,29	0,5068 83,42	0,0504 8,29	0,13695	—	—	—
	B. coli commune	Kein Wachstum	0,6118	0,03724 6,42	0,48941 84,40	0,0532 9,18	0,34933	+ 0,16928	34,09	23
		Vor dem Versuch	0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0784 12,47	0,18005	—	—	—
	B. osteomyel.	Kein Wachstum	0,63168	0,05376 7,93	0,57523 84,93	0,10214 7,14	0,26293	+ 0,06288	85,40	14
		Vor dem Versuch	0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0784 12,47	0,1269	—	—	—

Tabelle IV.

	Anaerobiose Knochenbouillon, Knochenmehl, Glukose, 86 Tage	Stickstoffgesamtmengen und Berechnung in Prozenten				P ₂ O ₅ Gesamt- menge	P ₂ O ₅ in Lösung über- gegangen	Ca Gesamt- menge	Ca in Lösung über- gegangen	Glukose zersetzt in Prozenten	Alkali- grad entsprechend N/100 H ₂ SO ₄
		NH ₃ (frei)	Amid- stickstoff	Diamino- stickstoff	Mono- amino- stickstoff						
D mit CaCO ₃	Staphyl. aureus	0,0898 34,12	0,01926 7,32	0,11317 43,02	0,04094 15,54	0,03272	— 0,03068	0,06553	— 0,02972	83	22
	Staphyl. citreus	0,1067 40,54	0,01445 5,49	0,10595 40,25	0,03612 13,72	0,04033	— 0,02307	0,07645	— 0,01880	100	19
	B. coli commune	0,13024 49,45	—	0,11088 42,13	0,02218 8,42	0,03571	— 0,02769	0,07823	— 0,01702	100	19
	B. osteomyel. nach dem Versuch	0,12836 48,80	—	0,11317 42,97	0,02167 8,23	0,03707	— 0,02633	0,06553	— 0,02972	100	21
	Gesamt- stickstoff	0,2632	0,0196 7,45	0,2044 77,65	0,0392 14,90	0,06340	—	0,09525	—	—	—
E ohne CaCO ₃	Staphyl. aureus	0,1335 36,15	0,03203 8,47	0,16755 44,32	0,04189 11,08	0,07141	+ 0,00421	0,06706	— 0,02549	100	35
	Staphyl. citreus	0,1412 37,35	0,03276 8,67	0,16632 44,00	0,0378 9,98	0,0913	+ 0,02410	0,0800	— 0,00255	100	30
	B. coli commune	0,15378 40,70	—	0,18973 50,18	0,03449 9,12	0,0625	— 0,0047	0,1004	+ 0,01785	100	26
	B. osteomyel. nach dem Versuch	0,14868 39,33	—	0,19404 51,34	0,03528 9,33	0,06847	+ 0,00120	0,06858	— 0,06858	100	22
	Gesamt- stickstoff	0,3780	0,0420 10,24	0,3108 75,72	0,0574 13,94	0,0672	—	0,08255	—	—	—

Tabelle V.

Knochenbouillon, Glukose ohne Knochenmehl 45 Tage		Stickstoffgesamtmengen in Proz.				P ₂ O ₅ Gesamtmenge im Filtrat	P ₂ O ₅ Verlust nach dem Versuch	Ca Gesamtmenge	Ca Verlust nach dem Versuch	Alkali oder Säuregrad auf 100 ccm	Glukose zersetzt in Proz.
		Gesamtmenge	Amidstickstoff	Diaminostickstoff	Monosaminostickstoff						
F	In Knochenbouillon	0,35560	0,02240 6,10	0,28560 77,84	0,05880 16,06	0,10390	—	0,07620	—	—	—
	Staphyl. aur.	0,3290	0,03158 9,52	0,2711 81,75	0,02895 8,73	0,1029	— 0,0010	0,07163	— 0,00457	grad N/10 H ₂ SO ₄ 5 ccm	1,22
	Staphyl. citr.	0,3276	0,02772 8,15	0,27972 82,22	0,03276 9,63	0,1027	— 0,0012	0,05715	— 0,01905	4,6	7,65
	Bact. coli comm.	0,3226	0,02772 8,73	0,2570 80,95	0,03276 10,32	0,1027	— 0,0012	0,06858	— 0,00762	4,2	8
	Bac. osteomyel.	0,3226	0,03024 9,09	0,2696 81,06	0,03276 9,85	0,1004	— 0,0035	0,06865	— 0,00755	10,0	67,68
H	Wachstum	0,32715	0,03091 9,20	0,29882 89,26	0,00515 1,54	0,06532	— 0,00188	0,07595	— 0,0066	Säuregrad N/20 KHO 20 ccm	12,40
	Staphyl. aur.	0,3117	0,03348 10,57	0,2782 87,80	0,00515 1,63	0,06647	— 0,0007	0,07709	— 0,00546	18 ccm	2,12
	Staphyl. citr.	0,33689	0,02895 8,59	0,2895 85,94	0,01842 5,47	0,06674	— 0,0005	0,07759	— 0,00496	20 ccm	16,29
	Bact. coli comm.	0,3237	0,02895 8,73	0,2579 77,78	0,04474 13,49	0,06317	— 0,0040	0,07163	— 0,0109	21 ccm	63,02
	Bac. osteomyel.	0,3780	0,0420 10,24	0,3108 75,77	0,0574 13,99	0,0672	—	0,08255	—	—	—

Tabelle VI.

	Anaërobie, Knochenbouillon, Knochenmehl 87 Tage	Stickstoffgesamtmenge und Berechnung in Proz.				P ₂ O ₅ Gesamt- menge	P ₂ O ₅ in Lösung über- gegangen	Ca Gesamt- menge	Ca in Lösung über- gegangen	Glukose zersetzt in Proz.	Säuregrad ent- sprechend N/20 KOH auf 100 ccm
		Gesamt- menge	Amid- stickstoff	Diamino- stickstoff	Mono- amino- stickstoff						
K	In Knochenbouillon	0,3780	0,0420 10,24	0,3108 75,77	0,0574 13,99	0,0672	—	0,08255	—	—	—
	Staphyl. aur. Wachstum nach dem Versuch	0,36826	0,1344 35,98	0,2392 64,02	—	0,08521	+ 0,01801	0,0853	+ 0,00275	—	22
	Staphyl. citr. Wachstum nach dem Versuch	0,35532	0,0816 22,98	0,2737 77,02	—	0,08685	+ 0,01965	0,08073	— 0,00182	—	20
	Bact. coli comm. Wachstum nach dem Versuch	0,35795	0,10265 20,90	0,27109 79,10	—	0,07633	+ 0,00913	0,08356	+ 0,00101	—	30
	Bac. osteomyel. Wachstum nach dem Versuch	0,35268	0,05264 14,92	0,30795 85,08	—	0,07152	+ 0,00432	0,0716	— 0,01095	—	12
C	Staphyl. aur. Nach der Infektion	0,5846	0,04032 7,21	0,4586 81,97	0,0605 10,82	0,29671	+ 0,11666	0,28553	+ 0,15863	0,92	17
	Staphyl. citr. Vor der Infektion	0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0764 12,47	0,18005	—	0,12690	—	—	—
	Staphyl. citr. Nach der Infektion	0,5831	—	0,4390 75,47	0,14268 24,53	0,52190	+ 0,38495	0,3980	+ 0,2013	17,84	26
	Bact. coli comm. Vor der Infektion	0,6118	0,03724 6,42	0,48944 84,40	0,0532 9,18	0,34933	+ 0,16928	0,3737	+ 0,2768	34,09	23
	Bac. osteomyel. Nach der Infektion	0,63168	0,05376 7,93	0,57523 84,93	0,10214 7,14	0,26293	+ 0,08288	0,2010	+ 0,0741	85,40	14
		0,6650	0,0336 5,35	0,5166 82,19	0,0764 12,47	0,18005	—	0,1269	—	—	—

Tabelle VII.

Serie	Kultur	Bakterienarten	P ₂ O ₅ im Filtrat vor der Infektion			P ₂ O ₅ im Filtrat nach dem Versuch		
			Gesamtmenge	In anorg. Ver- bindung Proz.	In org. Ver- bindung Proz.	Gesamtmenge	In anorg. Ver- bindung Proz.	In org. Ver- bindung Proz.
A	Anaërobiose	St. aur.	0,13695	41,66	58,34	0,67457	64,30	35,70
	Knochenmehl	St. citr.	0,1268	45,90	54,10	0,6427	69,12	37,88
	Glukose	B. coli comm.	0,13695	41,66	58,34	0,4481	89,25	10,75
		B. osteom.	0,13695	41,66	58,34	0,41479	93,98	6,02
		St. aur. + B. ost.	0,18005	56,34	43,66	0,41528	72,00	28,00
		St. citr. + B. ost.	0,18005	56,34	43,66	0,29563	70,80	29,20
		B. coli c. + B. ost.	0,1344	49,11	50,19	0,2505	78,12	21,88
B	Anaërobiose	St. aur.	0,06847	41,66	58,34	0,02979	80,11	19,89
	Glukose	St. citr.	0,0900	56,34	43,66	0,03652	76,74	23,26
	Knochenmehl	B. coli comm.	0,0900	56,34	43,66	0,04767	79,13	20,87
	CaCO ₃	B. osteom.	0,0900	56,34	43,66	0,02434	82,06	17,94
C	Anaërobiose	St. aur.	0,18005	56,34	43,66	0,29671	76,92	23,08
	Glukose	St. citr.	0,13695	41,66	58,34	0,5219	84,76	15,24
	Knochenmehl	B. coli comm.	0,18005	56,34	43,66	0,3493	85,52	14,48
		B. osteom.	0,18005	56,34	43,66	0,2629	68,52	31,48
D	Aërobiose	St. aur.	0,0634	42,60	57,40	0,0327	78,22	21,78
	Glukose	St. citr.	0,0634	42,60	57,40	0,0403	70,14	29,86
	Knochenmehl	B. coli comm.	0,0634	42,60	57,40	0,03571	78,60	21,40
	CaCO ₃	B. osteom.	0,0634	42,60	57,40	0,03707	81,10	18,90
E	Aërobiose	St. aur.	0,0672	49,11	50,89	0,07141	80,60	19,40
	Glukose	St. citr.	0,0672	49,11	50,89	0,0913	72,17	27,83
	Knochenmehl	B. coli comm.	0,0672	49,11	50,89	0,0625	70,65	29,35
		B. osteom.	0,0672	49,11	50,89	0,06847	80,00	20,00
F	Aërobiose	St. aur.	0,1039	44,41	55,59	0,1029	47,00	53,00
	Glukose	St. citr.	0,1039	44,41	55,59	0,1027	41,10	58,90
		B. coli comm.	0,1039	44,41	55,59	0,1027	60,00	40,00
		B. osteom.	0,1039	44,41	55,59	0,1004	52,05	47,95
H	Anaërobiose	St. aur.	0,0672	49,11	50,89	0,06532	55,40	44,60
	Glukose	St. citr.	0,0672	49,11	50,89	0,06647	39,16	60,84
		B. coli comm.	0,0672	49,11	50,89	0,06674	49,00	51,00
		B. osteom.	0,0672	49,11	50,89	0,06317	42,66	57,34
K	Anaërobiose	St. aur.	0,0672	49,11	50,89	0,08521	72,10	27,90
	Knochenmehl	St. citr.	0,0672	49,11	50,89	0,08685	76,15	23,85
		B. coli comm.	0,0672	49,11	50,89	0,07633	74,90	25,10
		B. osteom.	0,0672	49,11	50,89	0,07152	70,10	29,90

Tabelle VIII.

Serie	Kultur	Bakterienarten	Unter dem Einfluß der Bakterien- tätigkeit hervorgerufene Veränderung in der Stickstoffverteilung im Filtrat				Glukose zersetzt in Proz.	Säuregrad entspre- chend N ₂ O ₄ K ₂ O auf 100 ccm	Alkaligrad entspre- chend N ₂ O ₄ H ₂ SO ₄ auf 100 ccm
			Amid- stickstoff Proz.	Diamino- stickstoff Proz.	Mono- amino- stickstoff Proz.	NH ₃ Proz.			
A	Anaërobiose	St. aur.	+ 4,4	— 11,71	+ 7,27	—	91,34	50	—
	Glukose	St. citr.	— 0,21	+ 0,66	— 0,45	—	90,90	52	—
	Knochenmehl 126 Tage	B. coli comm.	+ 3,73	— 12,09	+ 8,36	—	100	30	—
		B. osteom.	+ 2,47	— 18,34	+ 15,87	—	97,45	30	—
		St. aur. + B. ost.	+ 7,60	— 5,40	— 2,20	—	100	35	—
		St. citr. + B. ost.	+ 2,88	— 7,74	+ 4,86	—	100	75,5	—
		B. coli c. + B. ost.	— 1,81	+ 7,92	— 6,11	—	100	24	—

Serie	Kultur	Bakterienarten	Unter dem Einfluß der Bakterien- tätigkeit hervorgerufene Veränderung in der Stickstoffverteilung im Filtrat				Glukose zersetzt in Proz.	Säuregrad entspre- chend N/100 KHO auf 100 ccm	Alkaligrad entspre- chend N/100 H ₂ SO ₄ auf 100 ccm
			Amid- stickstoff Proz.	Diamino- stickstoff Proz.	Mono- amino- stickstoff Proz.	NH ₃ Proz.			
B	Anaërobiöse	St. aur.	+ 3,36	— 2,82	— 0,54	—	73,93	32	—
	Glukose	St. citr.	+ 2,84	— 8,46	+ 5,66	—	90,70	16	—
	Knochenmehl	B. coli comm.	+ 3,76	— 1,67	— 2,10	—	83,92	18	—
	CaCO ₃ 87 Tage	B. osteom.	+ 4,14	— 7,89	+ 3,74	—	71,75	36	—
C	Anaërobiöse	St. aur.	+ 1,86	— 0,22	— 1,65	—	0,92	17	—
	Glukose	St. citr.	— 8,29	— 7,95	+ 16,24	—	17,84	26	—
	Knochenmehl	B. coli comm.	+ 1,07	+ 2,21	— 3,28	—	34,79	23	—
	87 Tage	B. osteom.	+ 2,58	+ 2,74	— 5,34	—	85,40	14	—
D	Anaërobiöse	St. aur.	— 0,13	— 34,63	+ 0,64	+ 34,12	83,00	—	22
	Glukose	St. citr.	— 1,95	— 37,40	— 1,18	+ 40,54	100	—	19
	Knochenmehl	B. coli comm.	— 7,45	— 35,52	— 6,48	+ 49,45	100	—	19
	CaCO ₃ 87 Tage	B. osteom.	— 7,45	— 34,68	— 6,67	+ 48,80	100	—	21
E	Anaërobiöse	St. aur.	— 1,77	— 31,40	— 2,86	+ 36,13	100	—	35
	Glukose	St. citr.	— 1,57	— 31,72	— 3,96	+ 37,35	100	—	30
	Knochenmehl	B. coli comm.	— 10,24	— 25,54	— 4,82	+ 40,70	100	—	26
	87 Tage	B. osteom.	— 10,24	— 24,38	— 4,61	+ 39,33	100	—	22
F	Anaërobiöse	St. aur.	+ 3,42	+ 3,91	— 7,33	—	1,22	—	5
	Glukose	St. citr.	+ 2,05	+ 4,38	— 6,43	—	7,65	—	4,6
	45 Tage	B. coli comm.	+ 2,63	+ 3,11	— 5,74	—	8,00	—	4,2
		B. osteom.	+ 2,99	+ 3,22	— 6,21	—	67,68	—	10,0
H	Anaërobiöse	St. aur.	— 1,04	+ 13,49	— 12,45	—	12,40	20	—
	Glukose	St. citr.	+ 0,33	+ 12,03	— 12,36	—	2,12	18	—
	45 Tage	B. coli comm.	— 1,65	+ 10,17	— 8,22	—	16,29	20	—
		B. osteom.	— 1,51	+ 2,01	— 0,50	—	63,02	21	—
K	Anaërobiöse	St. aur.	+ 25,74	— 11,75	— 13,99	—	—	22	—
	Knochenmehl	St. citr.	+ 12,74	+ 1,25	— 13,99	—	—	20	—
	ohne Glukose	B. coli comm.	+ 10,66	+ 3,33	— 13,99	—	—	30	—
	87 Tage	B. osteom.	+ 4,08	+ 9,31	— 13,99	—	—	12	—

Außer diesen Serienversuchen wurde von uns zur näheren Kenntnis des *Bacillus Henke* die Mineralnährflüssigkeit von Stoklasa infiziert und eine Symbiose mit anderen Bakterien auf 3 verschiedenen Nährböden beobachtet. Von den zu diesem Zwecke bestimmten 72 Kolben wurde eine bestimmte Zahl nach je 5 Tagen untersucht und die Resultate in Tabelle No. 1 dargestellt.

Der Kolben No. 1 enthielt *Bac. osteomyel.*;

„ „ „ 2 „ „ „ + *Staphyl. aureus*;
 „ „ „ 3 „ „ „ + „ *citreus*;
 „ „ „ 4 „ „ „ + *Bact. coli commune*.

Der Inhalt der Kolben wurde auf Reinheit der Kultur mikroskopisch durch Ueberimpfung und Agarplattengießen, sowie nach der Modifikation Drigalski-Conradi kontrolliert. Unter einer jeden Stickstoffbestimmung steht die Berechnung in Prozenten zur Gesamtmenge, d. h. zur Summe der verschiedenen Stickstoffarten. Einer jeden Bakterienart entsprechen 2 Reihen von Zahlen, die oben nach, die unten vor dem Versuch. Die Tabelle VIII erleichtert die Uebersicht über die vielen in 6 Tabellen dargestellten Stickstoffbestimmungen. Was den Phosphor und das Calcium anbetrifft, so geht beim Vergleich der Tabellen E und H mit B und D deutlich hervor, daß die Bakterien den Phosphor der

Knochenbouillon resorbieren. In den Versuchen B und D, welche CaCO_3 , durch das die Säure neutralisiert wurde, enthalten, konnte kein lösender Einfluß derselben auf das Knochenmehl stattfinden. (Der Inhalt der Kolben wurde stark durchgeschüttelt.)

Der Uebergang des Knochenmehlphosphors in Lösung war stets von der Säure oder Alkalibildung durch die Bakterien abhängig. In den glukosehaltigen Versuchen A und C war mehr Phosphor als in dem glukosefreien K in Lösung übergegangen, in dem calciumkarbonathaltigen B ging kein Phosphor in Lösung über. Ebenso verhält sich das Calcium, wo die Versuche A, C, E und K die nötige Uebersicht geben. Interessant ist es, daß in allen Versuchen Phosphor und Calcium nicht in dem Verhältnis, wie sie in dem Knochenmehl vorhanden, in Lösung übergehen; es handelt sich wohl hier um die stark variierende Calciummenge des Knochenmehls (bis 6,7 Proz.). In den mit Calciumkarbonat versetzten Versuchskolben wurde immer ein schneller Uebergang des Knochenmehlciumkarbonats in Lösung konstatiert. Sollte es nicht der Fall sein, so müßten die Versuche B neben dem Calcium auch den Knochenmehlphosphor in Lösung enthalten; hier findet nicht nur keine Zunahme des gelösten Phosphors statt, sondern eine Abnahme, d. h. eine Aufnahme durch die Bakterien, welche in Tabelle VII dargestellt ist. Von dem Knochenmehlphosphor (30,09 Proz.) gehören dem organischen 4,22 Proz. und 95,78 Proz. dem anorganischen an.

Was die Glukosezersetzung anbetrifft, so geht aus Tabelle VIII eine energische Zersetzungsfähigkeit durch Mischkulturen deutlich hervor, die Anwesenheit des Calciumkarbonats als Neutralisationsmittel führt zur vollständigen Glukosezersetzung, wie wir es besonders bei *Staphylococcus aureus* in der Serie B sehen im Vergleich zu denselben Versuchen ohne Calcium. Auf eine jede Bakterienart sowie das Verhältnis zwischen Glukosezersetzung und Säurebildung wollen wir hier nicht näher eingehen, weil die Tabellen eine völlige Uebersicht geben. Die in einigen Versuchen scheinbare Abweichung läßt sich durch den basischen Charakter der Stickstoffzersetzungsprodukte, die nicht indifferent sind, erklären. Die Glukoseaufnahme durch die Bakterien muß zweifellos als selbständig unabhängig von der Stickstoffzersetzung und -Aufnahme angesehen werden und dient als Unterhaltungsmittel der Lebenstätigkeit. Tabelle VIII, aus der eine Abnahme der Monoamine in allen Serien hervorgeht, läßt dieselbe Meinung über den Stickstoff nicht aussprechen. Die Misch- und Dauerkulturen der Serie A bilden keine unerwartete Ausnahme.

Bei Steigerung der säureneutralisierenden Mittel, wie Knochenmehl und Calciumkarbonat, steigt auch die reduzierende Tätigkeit der Bakterien.

In den anaëroben Versuchen sind die Monoamine von allen 4 Bakterien vollständig verbraucht und die Zunahme des basischen Stickstoffs geht ziemlich regelmäßig vor sich. In diesen, den natürlichen Verhältnissen vielleicht am nächsten stehenden Versuchen gibt *Bac. osteomyelitis* die größte Zunahme an Diaminen, dann folgt *Bact. coli*. Die zuckerfreien Serien K und H stehen ganz isoliert. Die Versuchsdauer ist hier 45 Tage. Interessant scheint die Beobachtung, daß keine Zunahme des Amidstickstoffs stattfindet. Wir wollen annehmen, daß es sich hier nicht um die kürzere Versuchsdauer, sondern um die Abwesenheit des Knochenmehls und des Calciumkarbonats handelt (H), da in den vier ersten Versuchen der Serie A, welche länger dauerte, auch

keine Zunahme konstatiert wurde. In Serie H findet im Gegensatz zu den anderen anaëroben Kulturen (Ausnahme *Bac. osteomyelitis* und *Bact. coli*) eine starke Zunahme der Diamine statt, in den Serien C, B und A (mit Ausnahme der Mischkulturen), enthaltend Knochenmehl und Calciumkarbonat, dagegen nur ein quantitativer Unterschied. Die glukosefreie Serie K gibt einen Beweis dafür, daß die Abwesenheit der Glukose neben dem Amidstickstoff auch eine Zunahme der Diamine begünstigt, das Knochenmehl und das Calciumkarbonat dagegen aber eine tiefgehende Veränderung in der Lebenstätigkeit der Bakterien hervorrufen. Zum Schlusse seien die hauptsächlichsten Ergebnisse und die daraus gezogenen Folgerungen kurz zusammengefaßt:

1) In aëroben und anaëroben Kulturen findet immer eine Abnahme der Monoamine des Nährbodens statt.

2) In aëroben Kulturen unterliegen die Diamine am leichtesten der Zersetzung, wobei Ammoniak auf Kosten anderer Stickstoffverbindungen des Nährbodens prävenierend auftritt.

3) In anaëroben Kulturen findet eine Zunahme des Amidstickstoffs, hauptsächlich durch Zersetzung der Monoamine, statt.

4) Die Glukosezersetzung durch Bakterien ist ein selbständiger, von der Stickstoffassimilation unabhängiger Prozeß.

5) In aëroben Kulturen befördert die Glukose, das Knochenmehl und das Calciumkarbonat das Zersetzungsvermögen der Bakterien mit Bildung des Ammoniaks, hauptsächlich aus Diaminen, als Endprodukt.

6) Bei aëroben und anaëroben Kulturen steigt die Glukosezersetzung bei Anwesenheit des Calciumkarbonats.

7) Das Lösungsvermögen des Knochenmehlphosphors im Nährboden mit Knochenmehl steigt mit der Säurebildung.

8) Enthält der Nährboden organischen und anorganischen Phosphor, so wird der erste von den Bakterien bevorzugt.

9) In aëroben Kulturen sinkt das Zersetzungsvermögen der Bakterien bei Abwesenheit des Knochenmehls und Calciumkarbonats; die Zersetzung geht niemals bei Abspaltung des Ammoniaks vor sich, es findet nur eine Zunahme des Amidstickstoffs und des Diaminstickstoffs aus den Monoaminen statt.

10) Das *Bact. coli commune* und der *Bac. osteomyelitis* besitzen ein sehr energisches Vermögen, Glukose und Stickstoffverbindungen den beiden Staphylokokken gegenüber zu zersetzen.

11) Der *Bac. osteomyelitis* zersetzt im Nährboden die Stickstoffverbindungen und besonders die Glukose bedeutend energischer als das *Bact. coli commune*.

12) Die morphologischen und biologischen Eigenschaften des *Bac. osteomyelitis* unterscheiden denselben scharf von den beiden hier angeführten Staphylokokken und dem *Bact. coli commune*.

Am Schlusse der vorliegenden Arbeit spreche ich Frau Dr. N. Sieber für die Anregung zu diesen Untersuchungen, sowie die entgegen-

kommendste Anleitung, die sie mir bei der Ausführung zuteil werden ließ, den wärmsten Dank aus.

Literatur.

- 1) Genkel, A., Die bakteriziden Eigenschaften des Knochenmarks und die Aetiologie der Osteomyelitis. [Russisch.]
- 2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 6. No. 16—17.
- 3) Biochem. Zeitschr. Bd. 11. 1908.
- 4) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 33.
- 5) Biochem. Zeitschr. Bd. 7. 1908.

Nachdruck verboten.

Bacillus arenicolae n. sp., a pathogenic Bacterium from the gut-epithelium of *Arenicola ecaudata*.

By

H. B. Fantham, D. Sc. Lond., and
Quick Laboratory, Cambridge, formerly
of University College, London.

Annie Porter, B. Sc. Lond.,
Zoological Research Laboratory,
University College, London.

With 1 plate.

Introduction.

Few pathogenic Bacteria have been described as occurring within the epithelium of the digestive tract of Invertebrates, though Bacteria have been recorded from the lumen of the digestive tract of Arthropods, Annelids, etc. In the following paper we take the opportunity of describing the morphology and pathogenic effects of a bacterial organism found inside the gut-epithelium of the Polychaete, *Arenicola ecaudata*.

To the morphologist it would seem that almost too much attention has been paid to the action of Bacteria on the tissues of the higher animals, especially of Mammals, with the consequent overlooking of many valuable morphological and cytological details in the Bacteria themselves. The manuals of bacteriology tell us little or nothing about the structure of Bacteria, but this omission is now gradually being supplied by various workers. Some of these workers are led to undertake researches on the morphology of Bacteria, following on previous researches on the Protozoa or Protophyta, as was the case with the illustrious Schaudinn.

We have much pleasure in thanking our friend Miss Margaret Robinson of University College, London, for kindly bringing to our notice the organism described in this paper, and for providing us with material for investigation.

Material and methods.

The bacillus occurred in the gut-epithelium of *Arenicola ecaudata* obtained from Plymouth. The organism in life was seen to be moving about in the lumen of the gut of the Polychaete host, appearing as a refractile rod which sometimes penetrated the gut-epithelium. On fixing and preserving the material, bacteria were found in sections of the gut of *Arenicola*, causing lesions in the epithelium, and degeneration of the cells (Pl. fig. 1). The epithelium attacked was found

to be ciliated. Cilia occur along definite grooves in the lateral walls of the stomach and intestine of *Arenicola* (Ashworth, 1904, p. 28). Judging from the examination of sections, the bacilli seem to be chiefly confined to the ciliated tracts¹⁾.

The sections of the gut of the Polychaete were made from material preserved in Bouin's liquid (picro-formol-acetic) and were stained with Heidenhain's iron-haematoxylin and lichtgrün. The sections were 5 μ to 7,5 μ thick.

As the new parasite described in this paper is rod-like or bacillary in form, and occurs in *Arenicola ecaudata*, we propose for it the name *Bacillus arenicolae*, the species being new. Its systematic position, so far as can be determined, is noted on p. 332.

Morphology.

Bacillus arenicolae averages about 11 μ long and 1 μ broad. Extreme individuals measure 7 μ to 17 μ long by 0,7 μ to 1,3 μ broad. Some of the larger forms may be slightly sinuous in outline (Pl. fig. 5, 15, 17).

Each bacillus is surrounded by a pellicle or periplast, the exact nature of which we were unable to determine. Cilia are absent. Many granules occur inside the bacillus. These granules are chromatophile, for they are stained deeply by iron-haematoxylin after the most careful differentiation with iron-alum. The internal granules, then, take up nuclear stains. The chromatophile granules are often concentrated and arranged to form bars passing transversely across the organism (Pl. fig. 2—17) usually extending across the entire width of the bacillus (Pl. fig. 4, 15, 17), but at times reaching only part of the way across the interior of the organism (Pl. fig. 14, 20). Small, free chromatic granules are also often found scattered among the chromatic bars (Pl. fig. 11). The chromatophile granules would appear to be composed of chromatin or a substance closely allied thereto, in so far as we can infer from the present state of our knowledge of the staining reactions of such substances. We may, then, state that in *Bacillus arenicolae* there is a diffuse nucleus present in the form of a number of bars and granules arranged as a chromidial system.

It is important to note, however, that in some specimens of the bacillus the chromatophile granules and bars are refractile, probably indicating bacilli in varying stages of metabolic activity. Such refractile granules are not composed entirely of true chromatin, though darkly staining with iron-haematoxylin. We believe that the refractile granules are composed of metachromatin or volutine, which is either an altered form of chromatin or a reserve substance with staining reactions somewhat like those of chromatin (though often showing a purplish tint). The puzzling substance metachromatin has been carefully discussed by Guilliermond (1906) and does not need further consideration here.

The refractile granules or dots seen in *Bacillus arenicolae* often exhibit a refringent centre, surrounded by a minute darkly staining area (Pl. fig. 7, 10, 12, 13, v). The darkly staining area is sometimes seen to one side of the minute refractile spot, in the form

1) One of us has recently received a letter from Dr. Ashworth in which he states that he has examined again his many sections of *Arenicola*, but has not found the bacillus in them. This tends to show that the organism is not of frequent occurrence.

of a crescent (Pl. fig. 7, 10, 23). We consider that such refractile granules are either composed of metachromatin surrounded by true chromatin, or of chromatin and metachromatin intermingled, the granules being almost too minute for more exact determination. It might be urged that these appearances of refractile granules surrounded by minute stained areas were due to staining effects, in other words to depositions of stain (in the form of films) around a metabolic granule of the bacillus. This may be so, for further knowledge of the chemical nature of such granules is required, and a series of micro-chemical tests is much to be desired. However, in our opinion, the refringent granules and bars in *Bacillus arenicolae* consist of chromatin and metachromatin in juxta-position. Our conclusions regarding these refringent granules are based on observations made on many bacteria during the last three years, the bacteria having been fixed and stained in various ways, and the staining reactions carefully correlated.

It is probable that under the name chromatin we are dealing with several closely allied complex substances which are constantly changing, that is, are in a state of flux. Further, it is very probable that there is an intimate relation between chromatin and its surrounding cytoplasm (Hertwig). Chromatin in a state of flux passes into the cytoplasm and furnishes the latter with materials for its vital activities. We consider that Bacteria contain such chromatin. The hypothesis of Schaudinn, adopted by Guilliermond, that Bacteria contain chromatin more or less mixed with cytoplasm, is, then, not incompatible with Růžička's hypothesis that the whole cell of a Bacterium can be compared to a kind of nucleus distributed on a cytoplasmic network, the colourable masses (granules) of which are composed of plastin containing minute grains of chromatin.

The cytoplasm of *Bacillus arenicolae* stains with difficulty, even after the use of such a powerful plasma stain as lichtgrün (to which a little picric acid solution was sometimes added). The lack of affinity of the cytoplasm — or that portion of the bacterial cell which appears to correspond to the cytoplasm of other cells — to "plasma" stains (e. g. lichtgrün, orange G, eosin) has been often noticed by us while working on the morphology of Bacteria. Spirochaetes react in a similar manner towards plasma stains (Fantham, Quart. Journ. Micr. Sc. 1908. p. 13). The cytoplasm of both Spirochaetes and Bacteria usually stains blue with Giemsa's solution, while the chromatin areas of Spirochaetes, Bacteria and some Protozoa (e. g. Trypanosomes) seem somewhat enlarged or swollen after Giemsa's stain, perhaps due to a deposition of the chromatin (reddish-purple) stain on the outside of the truly nuclear or chromatin granules. The structure of the cytoplasm of *Bacillus arenicolae* is probably finely alveolar. We have carefully differentiated chromatophile structures from the accompanying minute alveolar cytoplasmic network.

As in many Bacteria, the ends of *Bacillus arenicolae* are thickened and stain deeply (Pl. fig. 9), rather like chromatin. Indeed the whole outline of the body is sharply marked and deeply stained by iron-haematoxylin. Similarly, the periplast of Bacteria is often stained pink with Giemsa's solution, as is also the periplast of some Protozoa (certain Flagellates). The periplast of *Bacillus arenicolae* is flexible, and these above-mentioned staining reactions suggest that flexible and elastic tissues (e. g. myonemes) are composed of a substance

somewhat allied to, or possibly derived from, chromatin. This would especially apply to the myonemes of *Spirochaetes*, and to those of "*Trypanosoma*" *noctuae* the origin of which was traced by Schaudinn. Here, again, regarding the value and extent of deductions as to the chemical constitution of cytological substances from their staining reactions, we are brought sharply to the limits of present-day knowledge, and we realise the great need of delicate micro-chemical tests for protistological investigations. In the absence of such tests the term "chromatin" can be used only in a morphological sense.

Before leaving this subject, however, we may say that the Bacteria are almost certainly a heterogeneous group, but the occurrence of chromatin granules in them, and the arrangement of these granules are very probably not without an evolutionary significance (see Fantham, *Science Progress*. 1908. p. 161).

Division.

In *Bacillus arenicolae* division is transverse, by the method of septation (Pl. fig. 18—24). In a cell of *Bacillus arenicolae* which is about to divide a transverse, deeply staining septum appears about the middle of the length of the cell (Pl. fig. 18—21). This septum splits in the median line and the halves of the septum gradually separate, being slightly connected for a time by a thin cross-strand at the centre (Pl. fig. 22—24). The portions of the parent septum separate finally, forming the ends of the daughter bacilli (Pl. fig. 24).

This description of the method of division of *Bacillus arenicolae* would apply equally well to that of other bacilli dividing by septation, as described by various workers.

Spore formation.

Bacillus arenicolae is endosporous, forming one terminal spore (Pl. fig. 25—30). In a specimen about to sporulate, the arrangement of the chromatin in bars becomes less distinct, especially at the spore-forming end (Pl. fig. 25). There is a migration of darkly staining granules, probably of true chromatin, to the sporulating end (Pl. fig. 25). The young spore begins, then, as a darkly staining, chromatin-like mass situated at one end of the bacillus. As spore formation proceeds, this mass stains less darkly (Pl. fig. 27), in other words, the staining capacity of the developing spore gradually decreases. The contour of the spore-mass becomes definitely oval, and gradually more refringent. Ultimately, a more or less unstainable, highly refractile spore, oval in shape, is seen at one end of the bacillus. The oval spore measures $2\ \mu$ by $1\ \mu$ approximately (Pl. fig. 31). The remains of the parent cell persist for a time, for all the chromatophile granules do not enter the spore, and some of the granules may still be clearly seen for a time at the non-sporulating end (Pl. fig. 29, 30). Probably most of the metachromatin remains behind, outside the spore, together with much of the cytoplasm. The remains of the bacillary cell, outside the spore, become smaller and gradually break down (Pl. fig. 28—30), and the spore is finally set at liberty (Pl. fig. 31).

Note on systematic position.

Much has been written at various times on the classification of the Bacteria. The subject is difficult and controversial. It is hardly within

the scope of this paper to enter upon a discussion of the difficult question of classification. The genus *Bacillus* more closely concerns us. In a recent classification (Jensen, 1909) the genus *Bacillus* has been subdivided. The organism described in this paper seems to belong to the genus *Bacillus*, as ordinarily defined and understood, and we name it *Bacillus arenicolae* provisionally. Unlike *Bacillus bütschlii* it is monosporous. Schaudinn himself recognised that *Bacillus bütschlii* would perhaps have to be placed later in the genus *Dispora*, but gave the organism its present name in view of the unsatisfactory nature of the classification of Bacteria. We follow Schaudinn's example, and leave our organism with the provisional name of *Bacillus arenicolae*, as it has a special habitat in the gut-epithelium of *Arenicola ecaudata*, on the cells of which it exerts a destructive action, perhaps shortening the life of the Polychaete.

Summary.

1) *Bacillus arenicolae* n. sp. is found in the lumen of the gut and within the intestinal epithelium of *Arenicola ecaudata* (Pl. fig. 1). It is not of frequent occurrence.

2) The bacillus causes lesions in the gut-epithelium of the Polychaete host (Pl. fig. 1), and may hasten the death of the Annelid.

3) *Bacillus arenicolae* is apparently confined to the ciliated tracts in the walls of the intestine of *Arenicola ecaudata*.

4) The parasite is from 7 μ to 17 μ long by 0.7 μ to 1.3 μ broad, averaging 11 μ by 1 μ . Internally it shows many darkly staining granules, often arranged in the form of transverse bars. These granules are probably composed of chromatin. We consider that a nucleus occurs in *Bacillus arenicolae* in the form of a chromidial system (Pl. fig. 2—17).

5) Some of the colourable granules are refringent, probably consisting of metachromatin. These may be intermingled with granules of true chromatin (Pl. fig. 7, 10, 12, 13, 21, 22, 23).

6) The cytoplasm stains with difficulty and would appear to be very finely alveolar in structure. The periplast is deeply staining.

7) Division is transverse by a process of septation (Pl. fig. 18—24).

8) *Bacillus arenicolae* forms one terminal spore (Pl. fig. 25—30, 31).

References to Literature.

In the following list some of the more recent papers on the morphology of Bacteria and allied organisms are given. Further references will be found in the lists appended to some of these memoirs, especially those of Guilliermond.

Ashworth, J. H., *Arenicola*, the lug-worm. (Liverpool Mar. Biol. Comm. Mem. 11. 1904. 118 p. 8 plates.)

Dobell, C. C., Notes on some parasitic Protists. (Quart. Journ. Microscop. Sci. Vol. 52. 1908. p. 121—138. 1 plate.)

— —, On the so-called "sexual" method of spore-formation in the disporic Bacteria. (Ibid. Vol. 53. 1909. p. 579—596. 1 plate.)

- Fantham, H. B., *Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii* (Certes) and *Spirochaeta anodontae* (Keysseltz); their movements, structure, and affinities. (Quart. Journ. Microscop. Sci. Vol. 53. 1908. p. 1—73. 3 plates.)
- —, The Spirochaetes: a review of some border-line organisms between animals and plants. (Science Progress. July. 1908. No. 9. p. 148—162.)
- Guilliermond, A., La cytologie des Bactéries. (Bull. Inst. Pasteur. T. 5. 1907. p. 273—283, p. 321—331.)
- —, Les corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. (Ibid. T. 4. 1906. p. 145—151, p. 193—200.)
- —, Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores. (Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908. p. 9—43. 3 Taf.)
- Jensen, O., Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 22. 1908/09. p. 97—98, p. 305—346.)
- Růžicka, V., Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 289—300.)
- Schaudinn, F., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus bütschlii* n. sp. (Arch. f. Protistenk. 1902. p. 306—343. 1 Taf.)
- —, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. II. *Bacillus sporonema* n. sp. (Ibid. Bd. 2. 1903. p. 421—444. 1 Taf.)
- Swellengrebel, N. H., Zur Kenntnis der Cytologie von *Bacillus maximus buccalis* (Miller). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 617—628, p. 673—681.)
- —, Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Ann. Inst. Pasteur. T. 21. 1907.)
- —, Zur Kenntnis der Cytologie der Bakterien. I. *Bacterium binucleatum*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 193—201.)
- Vejdovsky, J., Bemerkungen über den Bau und Entwicklung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 6. 1900. p. 577—589. 1 Taf.)

Explanation of plate.

Illustrating Dr. Fantham and Miss Porter's paper on "*Bacillus arenicolae* n. sp., a pathogenic Bacterium from the gut-epithelium of *Arenicola ecaudata*".

All figures were outlined with Zeiss' camera lucida, using the 2 mm apochromatic homogeneous immersion objective and compensating oculars 4 and 8 of Zeiss.

Fig. 1 magnified 750 diameters.

Fig. 2 to 31 magnified 1500 diameters, approximately.

Fig. 1. Portion of transverse section of intestine of *Arenicola ecaudata*, showing area of epithelium infected by *Bacillus arenicolae*. *bac.* = *Bacillus arenicolae*; *b.m.* = basal membrane; *c.m.* = cilia and mucus mingled together; *dg. ep.* = degenerating epithelium; *ep.* = normal gut-epithelium; *g.c.* = goblet cell; *les* = lesion in gut-epithelium.

Fig. 2 to 17 illustrate general morphology of *Bacillus arenicolae* in which transversely arranged granules or bars of chromatin are seen.

Fig. 7, 10, 12, 13 show refringent granules of metachromatin or volutine (*v*).

Fig. 11 shows chromatin arranged in the form of transverse bars and minute granules. A good example of a diffuse nucleus in the form of a chromidial system.

Fig. 5, 15, 17 long forms, with a somewhat sinuous outline.

Fig. 18 to 24 illustrate stages of transverse division.

Fig. 18 to 21 show presence of transverse septum in each cell.

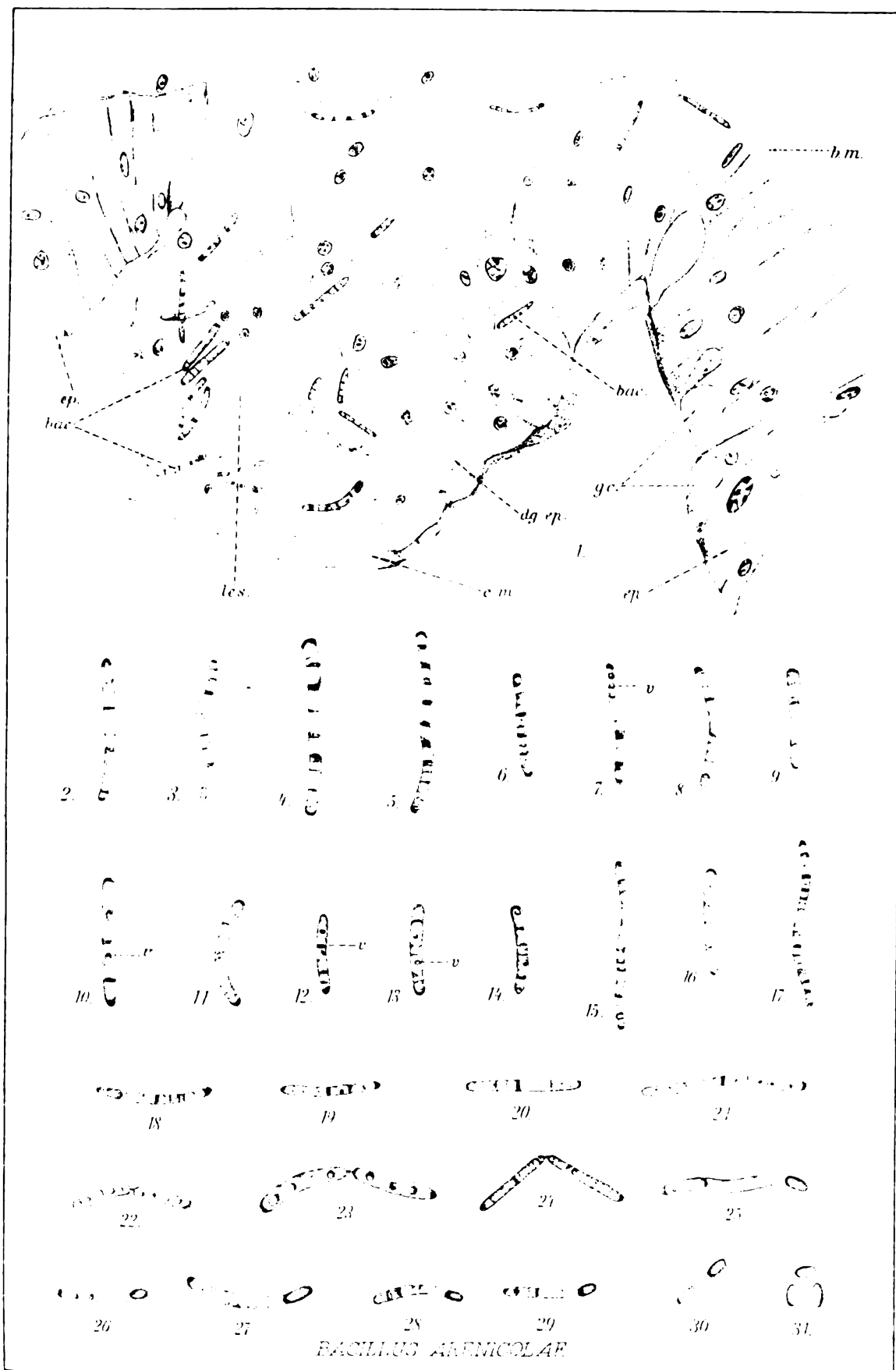
Fig. 22 to 24 show transverse septum already divided, and daughter bacilli still connected by a cross-strand.

Fig. 21 to 23 show presence of refringent granules of metachromatin (volutine).

Fig. 25 to 31 represent the processes of spore formation.

Fig. 25 to 30 show formation of terminal, oval spore, at first darkly staining. The gradual degeneration of the parent cell is also seen.

Fig. 31. Three separate oval spores of *Bacillus arenicolae*.



H.B. EtAP del

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiser, lith. Jena

décla
aurai
à l'e
l'En
son l
prés
qu'il
de l'a
ultéri
l
l'atlet
parait
il la
origin
enky
comp
Vier
et l'E
N
chez
milit
après
l'acti
l'educ
sorton
en d
région
d'été
des m
l'Amé
Espa
sont
de la
l'Amé
l'Asi
de l'
l'Asi
comp
d'été

Nachdruck verboten.

Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, *Entamoeba minuta* n. sp.

1^{re} Mémoire.

Morphologie — Evolution — Pathogénie.

Par Dr. M. Elmassian, Paris.

Avec 2 planches.

Dans un très intéressant travail sur la dysentérie tropicale *Viereck* déclarait (1907) avoir observé deux cas (sur une soixantaine), où l'affection aurait été provoquée par des Amibes appartenant, selon toute vraisemblance, à l'espèce étudiée par *Casagrandi* et *Barbagallo*, c'est-à-dire, à l'*Entamoeba coli* (*Lösch*). Cependant une étude plus complète de son Protozoaire, soit à l'état végétatif, soit surtout à l'état enkysté, se présentant invariablement avec quatre noyaux, lui permettait de croire qu'il s'agissait, peut-être, d'une nouvelle espèce amibienne, et il proposait de l'appeler „*Entamoeba tetragena*“ dans le cas où des recherches ultérieures viendraient attester le bienfondé de cette hypothèse.

L'année suivante *Hartmann* (avec *Prowazek* 1908) attirait l'attention sur une nouvelle Amibe dysentérogène qu'il avait trouvée, paraît-il, chez des malades venant des possessions africaines allemandes, et il la désignait sous le nom de *Ent. africana*, faisant ainsi allusion à son origine. Mais bientôt après ayant eu l'occasion d'examiner des formes enkystées de cette Amibe, également à quatre noyaux, il se rendait compte de la parfaite identité existant entre ce parasite et celui de *Viereck*: il retirait volontier le nom précédemment proposé par lui et l'*Entamoeba tetragena* conservait ainsi sa désignation primitive.

Nous même nous venons d'étudier un cas de dysentérie latente chez un Européen ayant séjourné de longues années dans les régions méditerranéennes de l'Amérique du sud (Paraguay) et souffrant actuellement, après plusieurs années de son retour dans nos régions de coliques accompagnées d'évacuations liquides fréquentes dans lesquelles nous avons pu constater la présence d'une Amibe ayant une très grande analogie, surtout à l'état enkysté (quatre noyaux), avec l'*Ent. tetragena*. Elle en diffère toutefois par plus d'un caractère morphologique à l'état végétatif, et surtout par son mode d'évolution. Elle présente des phénomènes d'autogamie, mais elle ne suit pas comme on le verra plus tard les modalités établies, d'ailleurs très sommairement, par *Hartmann* pour l'Amibe de *Viereck*. Nous sommes convaincus d'être en présence d'une espèce d'Amibe nouvelle, sans aucun doute pathogène — notre malade ayant eu plusieurs crises dysentériques au Paraguay — et nous proposons de l'appeler *Entamoeba minuta* en raison même de sa taille très réduite ne dépassant guère 14 μ .

Mais avant d'aborder la description de notre parasite il nous semble indispensable d'ébaucher en quelques lignes les caractères morphologiques de l'*Ent. tetragena* tels qu'ils ont été présentés par *Viereck* d'abord, par *Hartmann* ensuite, dans le plus grand intérêt de la compréhension de notre exposé et de la comparaison nécessaire entre cette dernière Amibe, et celle que nous allons décrire.

D'après Viereck le corps de l'Ent. tetragena, de 20—30 μ , rond ou sphérique, ne présente pas au repos un ectoplasma différencié, elle a seulement des pseudopodes ectoplasmiques quand elle est en mouvement. Viereck ne dit pas si le noyau est visible à l'état frais, toutefois comme il trouve son Amibe très ressemblante avec l'Entamoeba coli on peut supposer que ce noyau soit aussi visible sans coloration comme chez cette dernière espèce. Après fixation et coloration le protoplasma du parasite montre une structure nettement alvéolaire. Son noyau est constitué d'un reticulum régulier qui porte les granulations de chromatine; l'une de ces granulations plus grosse placée au centre est le caryosome.

L'Ent. tetragena s'est montré pathogène pour les chats dont quelques-uns infectés par le rectum ont présenté de symptômes dysentériques qui disparurent d'ailleurs spontanément. Nous ne trouvons pas d'autres détails intéressants dans les observations trop limitées de cet auteur. Hartmann les répéta avec plus de soin, notamment en ce qui concerne l'enkystement et les phénomènes sexuels précurseurs et il apporta aussi quelques modifications aux interprétations antérieures très discutables.

Pour Hartmann l'Ent. tetragena, à l'état vivant, atteint presque le volume de l'Ent. histolytica. Comme cette dernière elle possède au repos un ectoplasma bien différencié, très homogène, très fortement réfringent lequel tranche nettement avec l'endoplasma, moins clair et contenant le plus souvent des granules, vacuoles, et corpuscules nutritifs etc. Cette Amibe a des mouvements assez vifs comme l'Ent. histolytica. Son noyau très souvent visible à l'état frais à l'encontre de ce que l'on observe chez cette dernière espèce a un aspect vésiculeux; il est entouré d'une membrane épaisse à double contour ressemblant beaucoup au noyau de l'Ent. coli. La chromatine très abondante se répartit d'une façon très variable sur le reticulum nucléaire, tantôt en forme de fines granulations déposées sur les points de croisement de travées de linine, tantôt en grosses masses sur la membrane nucléaire. On trouve au centre du noyau un caryosome plus ou moins grand qui contient (sur des préparations bien différenciées) un corpuscule central correspondant au centriol des cellules des métazoaires. D'autres fois ce centriole au centre du noyau est entouré d'une zone claire et alors la limite précédente du caryosome apparaît comme une espèce de membrane.

Au début de l'enkystement il y a formation d'une grande quantité de chromidies, après quoi le noyau du parasite se divise en deux. Les deux noyaux filles se divisent successivement à leur tour par deux fois; il se produit à deux reprises quatre noyaux dont deux périssent toujours et il n'en reste à la fin que deux qui copulent ensemble. Le noyau ainsi formé produit par division mitotique les quatre noyaux que l'on trouve en définitive dans les kystes. Hartmann n'insiste pas trop sur les diverses étapes de cette évolution qu'il expose très sommairement dans sa dernière publication (1908, 6) promettant de le faire bientôt en détail dans un prochain mémoire.

Par ce qui précède on voit qu'il y a contradiction entre ces deux auteurs en ce qui concerne un point essentiel de la morphologie de l'Ent. tetragena à l'état végétatif. Pour Hartmann il existe bel et bien à l'état de repos un ectoplasma mais à la suite des changements des conditions extérieures et intérieures du parasite il peut ne pas être

constant, ce qui expliquerait pour lui l'opinion contraire de Viereck. Tout en souscrivant à l'avis du premier de ces auteurs, en ce qui touche aux modifications produites accidentellement par la nature du contenu intestinal, nous croyons que ces modifications ne sont ni assez prolongées ni assez profondes pour laisser l'observateur dans le doute en présence d'une nouvelle espèce d'Amibe à reconnaître. L'existence ou l'absence d'ectoplasme jointes à la visibilité du noyau constituent des caractères très utiles pour la détermination des espèces dans le groupe que nous étudions, et l'on sait tout le parti qu'en tira Schaudinn lors de ses études sur les Amibes de l'intestin humain.

Nous avons insisté sur cette question importante de la différenciation du protoplasma parce qu'elle nous a servi justement ainsi qu'on le verra plus loin, avec la visibilité ou non-visibilité du noyau, comme un critérium important pour distinguer notre espèce de l'*Ent. tetragena*.

Technique et matériaux de recherches.

Depuis les mémorables travaux de Schaudinn où se trouve indiquée avec un luxe de détails la méthode à suivre pour l'étude des amibes parasites on peut dire qu'il n'a été rien créé de nouveau sous ce rapport. Nous mêmes au cours de ces recherches nous nous sommes astreints à suivre ses prescriptions et voici comment nous avons procédé. Pour avoir des matières fécales à l'état semi-liquide, ce qui est indispensable pour faire de bonnes préparations, nous attendions les jours où notre malade avait d'abondantes évacuations, et nous prélevions une partie des dernières produites dans la journée. Cela n'étant pas toujours suffisant pour avoir des Amibes à l'état végétatif, une ou deux fois nous avons recommandé au patient l'usage d'un purgatif salin qui produisit d'ailleurs un déplorable effet sur sa santé, à cause de l'état catarrhal chronique du gros intestin. Et à cette occasion nous conseillons la plus grande prudence dans l'usage des purgatifs si l'on veut éviter des souffrances inutiles. La plupart du temps il vaut mieux avoir recours à un régime laxatif qui suffit souvent à provoquer des selles abondantes et suffisamment molles. La matière fécale est étalée sur des lames propres au moyen d'un pinceau fin et mou et ce faisant on a soin de ne pas l'étendre en couches très minces qui en un rien de temps peuvent subir une dessiccation tant soit peu légère, toujours très préjudiciable à la bonne conservation des éléments figurés. Tout de suite après cette opération la lame est plongée dans le liquide fixateur et traitée ensuite par la voie humide ainsi qu'on le fait pour des coupes.

Comme fixateur nous nous sommes servis du sublimé de Schaudinn additionnés de 2 % d'acide acétique, dans lequel on ne laissait les lames que dix à quinze minutes. Le liquide de Zenker, celui de Bouin-Duboscq nous ont donné de même d'excellents résultats. Ce dernier surtout est particulièrement à recommander pour une coloration ultérieure par la méthode de Mann. Quant aux colorants, ils ont été choisis parmi les plus classiques: la presque totalité de nos préparations ont été obtenues avec l'aide de l'hématoxyline ferrique. La coloration au Giemsa peut être très utile, ainsi qu'on le verra plus loin, mais dans ce cas on ne doit pas monter les préparations au baume, on les examinera seulement dans une goutte d'eau ou de glycérine, recouvertes d'une lamelle; ces préparations ne sont pas permanentes.

Nous avons ici encore une fois l'occasion (Elmassian, Arch. de Zoologie expérimentale. T. II. p. 231. 1909) de recommander la méthode de

Mann comme coloration à teinture d'aniline, elle donne pour des éléments chromatiques et plastiques des détails très fins et très réels. Sur les conseils de notre ami M. Hollande nous avons parfois substitué à la potasse quelques gouttes de pyridine, qui agit de même comme agent différenciateur et n'altère nullement la cellule parasitaire.

Les figures données dans les planches ont été dessinées par nous même avec l'oculaire compensateur No. 12, et l'objectif apochromatique à distance frontale 2 m. m., les contours étant pris par l'appareil à dessiner d'Abbe. L'image recueillie étant celle rejetée au pied du microscope, et non au niveau de sa platine; il s'ensuit que les agrandissements représentés par nos figures sont en général au dessus de 1400 et 1500. Quelques rares figures, comme celles présentant les Amibes à l'état végétatif, ont été dessinées à l'aide de l'oc. compensateur No. 6; il en est tenu compte dans l'explication des planches.

Morphologie.

Etat végétatif.

L'*Entamoeba minuta* examinée dans la matière fécale, à l'état frais, entre lame et lamelle, est très difficile à distinguer au milieu des détritits alimentaires. Elle est pâle, terne, et ne tranche nullement sur les éléments environnants. Elle a la forme le plus souvent ronde ou ovale quand il est au repos. Son aspect est uniformément granuleux et alvéolaire et elle ne présente aucune différenciation périphérique, en un mot elle n'accuse pas d'ectoplasma nettement perceptible. Quand elle est en mouvement on voit ses pseudopodes, un peu plus clairs que son corps protoplasmique, hyalins mais pas réfringents, avec un point clair à leurs extrémités arrondies (fig. 36 a, b, c, d, pl. II, et fig. 5, 7, 28, pl. I). De ces organes toujours larges et de formes lobées il n'en existe le plus souvent qu'un seul. On en voit, il est vrai, parfois deux (fig. 36, pl. II), et plus, mais c'est là une chose exceptionnelle. Il nous est arrivé même de trouver rarement, dans les préparations colorées ou non des exemplaires munis de multiples pseudopodes, longs et cylindriques, qui les faisaient ressembler en infiniment plus petit à l'*Amoeba proteus* (fig. 6, pl. I). On voit donc combien est variable chez la même espèce la formation des pseudopodes et combien peu d'importance doit-on y attacher quand il s'agit d'une diagnose. — Les mouvements lents et discontinus du parasite que nous étudions n'ont rien de caractéristique. La lenteur de ce mouvement donne tout le loisir de dessiner ses différentes modalités.

Le noyau à l'état frais n'est jamais visible, ce qui constitue avec l'absence d'un ectoplasma bien distinct deux caractères morphologiques très importants pour différencier aisément, comme nous l'avons dit, cette Amibe de l'*Ent. tetragena*.

Il n'y a dans l'intérieur de l'*Ent. minuta*, en dehors des parasites adaptés dont il sera plus loin question, que très peu de corps étrangers, et les particules nutritives se réduisent à quelques amas de bactéries; il est à peine nécessaire d'ajouter qu'il n'existe chez cette espèce aucune vacuole pulsatile.

Les dimensions de notre amibe sont très réduites, et peuvent bien servir de caractère distinctif en plus des précédents. A l'état de repos elle mesure 12—14 μ , rarement elle atteint 16—18 μ . Une Amibe mesurant 20 μ est déjà suspect d'appartenir à une autre espèce. A notre connaissance c'est la plus petite parmi toutes celles jusqu'ici

trouvées dans l'intestin de l'homme; voilà la raison pour laquelle nous l'avons dénommée „minuta“.

Après fixation et coloration elle se présente sous la forme d'une petite boule arrondie ou ovalaire, avec au centre un petit noyau sphérique, très régulier et très riche en chromatine (fig. 38, pl. II). Son protoplasma d'une belle structure alvéolaire a un aspect uniforme depuis le centre jusqu'à sa surface, sans qu'on puisse y observer la moindre différenciation. Les alvéoles mesurent 1—2 μ ; leurs parois assez épaisses paraissent fortement granuleuses; elles retiennent un tant soit peu les colorants nucléaires, surtout de ceux qui sont d'origine anilinée. Les pseudopodes d'aspect finement granuleux mais pas hyalins présentent aussi une structure alvéolaire à maille serrée dont on peut facilement se rendre compte avec de forts grossissements et un éclairage approprié. Très souvent de grosses vacuoles, de corpuscules étrangers se trouvent dispersés à l'intérieur du protoplasma et persistent jusqu'après l'enkystement. Ces vacuoles ont été considérées par différents auteurs (Wahlkampf, Nägler) comme signe d'une grande activité vitale et il nous semble que cette interprétation correspond bien à la réalité (fig. 11, 12, 13, 24, 27, 30 etc., pl. I). Après une coloration par la méthode de Giemsa les vacuoles intrakystiques restent d'un rouge vif.

Parfois on trouve aussi à l'intérieur de l'Ent. minuta des Protozoaires englobés. Ils sont alors ou logés au milieu d'une immense vacuole (fig. 41, pl. II), ou enkystés (fig. 45, pl. II), ou enfin éparpillés en pleine substance protoplasmique (fig. 43, pl. II). On connaît chez les Protozoaires beaucoup d'exemple d'homophagie, mais cela ne nous paraît pas être le cas ici, car on peut voir à l'examen de la fig. 41 que le Protozoaire phagocyté n'appartient certainement pas, à cause de son noyau, à l'espèce que nous étudions. On en trouve un grand nombre d'ailleurs à l'état libre dans les fèces, et ils semblent être des individus nus de *Chlamydomphrys stercorea*. Dans le kyste dessiné sur la planche II (fig. 45) on peut voir un jeune parasite avec son noyau en division à côté de deux individus très développés et déjà enkystés, dont chacun contient une grande quantité de spores. Dans une autre figure de la même planche (fig. 43), on voit de semblables kystes parasités laissant échapper tout un groupe de corpuscules ronds dont nous n'avons dessiné qu'une partie. La cellule hôte ne paraît pas être intacte comme dans le cas précédent, elle présente des signes d'altérations profondes, entre autres, la disparition totale du noyau. Il n'y a pas de doute qu'il s'agit ici d'un parasitisme vrai. Prandtl et Doflein ont cité aussi des cas analogues respectivement chez l'*A. proteus* (*Allogromia*) et l'*A. vespertilio*.

Le noyau de l'Ent. minuta est remarquable par la richesse de sa chromatine (plus riche que celui de l'Ent. coli), par la régularité de sa forme, toujours sphérique, et enfin par l'épaisseur de sa membrane. Un petit caryosome de 0.5 μ , très vivement colorable, entouré parfois de fine granulations en garnit le centre. Le diamètre du noyau, à l'état végétatif, ne dépasse pas 2½—3 μ et dans les kystes il atteint facilement une dimension double. On peut donc le considérer à cause de ses caractères morphologiques comme intermédiaire entre le noyau de l'Ent. histolytica et l'Ent. coli. Comme le premier il a sa chromatine accumulée en majeure partie à la périphérie, et comme le second il possède une membrane épaisse et solide. Pour mettre celle-ci en évidence il suffit de pousser fortement la différenciation pendant une coloration à

l'hématoxyline ferrique, et on la trouve alors à peine teintée en gris. En outre de gros grains de chromatine formant un élégant chapelet circulaire tranchent sur elle par leur couleur noir. Ce contraste rend la membrane plus manifeste.

La méthode de Giemsa donne des indications très utiles sur la nature des membranes nucléaires chez les Amibes. Elle colore en rouge vif celle du noyau de l'Ent. coli, avec deux lignes limitantes en violet, l'intérieure étant plus foncée; elle teint au contraire en violet uniforme celle du noyau de notre espèce qui est plus épaisse. Cela tient probablement à une différence de structure plutôt qu'à une différence de nature de cet organe. Nous avons déjà eu l'occasion d'étudier (1909, Arch. f. Protist.) la membrane nucléaire de l'A. blattae et nous avons trouvé que sauf pendant les divisions, l'aspect à double membrane était un caractère constant. Nous pensons que sa constitution, et différentes particularités se rattachant à sa morphologie peuvent être très utiles dans des cas embarrassants comme terme de comparaison et de distinction entre des espèces voisines.

Notre malade ayant une infection mixte il nous a été facile de faire une étude comparative sur les mêmes préparations entre notre Amibe et l'Ent. coli. Dans la planche la figure 42 représente une Ent. coli dessiné à la même échelle que la fig. 38 (a, b, c). On saisit de suite la différence d'aspect existant entre les deux espèces. Tandis que le noyau de l'Ent. minuta a une membrane massive à bords irréguliers à cause des gros grains de chromatine fixés sur elle et qui font saillie en dehors et en dedans, celle de l'Ent. coli est mince et régulière comme dessinée à la plume. Les gros caryosomes qui s'y trouvent accolés intérieurement au nombre de 4 (ils proviennent par une division successive de cet organe en 2, en 4 et en 8 comme Schaudinn l'a montré) permettent déjà une distinction à première vue. Quant à la grosse particule de chromatine que nous avons parfois observé à côté du noyau, ce doit être une petite masse de chromidium. Il est à peine nécessaire de faire ici une autre comparaison avec le noyau de l'Ent. histolytica, ce dernier est tellement caractéristique qu'une confusion n'est guère possible.

Dans le caryosome jamais nous n'avons pu mettre en évidence le petit point différencié que Hartmann (1908 a, b) et Nägler (1909) ont montré, le premier dans l'Ent. tetragena, Amoeba diploidea etc., et le second chez plusieurs espèces nouvelles, parasites ou non qu'il fit dernièrement connaître. Pour ces savants il s'agit d'un centriole logé dans cet organe et recouvert par la chromatine, mais qui à certaines époques de la vie du parasite, notamment à l'approche d'une division se débarrasserait de cette chromatine et deviendrait visible. Hartmann dit qu'à ce moment le centriole est visible même à l'état frais, ainsi qu'il l'aurait maintes fois observé chez l'Ent. tetragena. Selon lui la reproduction continuelle de la chromatine tout autour du centriole et son émigration vers la périphérie, c'est à dire vers la membrane nucléaire constitue la même évolution cyclique que Boveri (1900), Vejdowsky et Mrazek (1903) ont décrite chez les centrioles des Métazoaires. Les phénomènes observés par Siedlecki chez le caryosome du Caryotropa Mesnili seraient aussi de nature analogue. Les idées de Hartmann sont très acceptables d'autant qu'elles s'appuient sur des faits paraissant bien observés. Mais nous avouons tout de même que dans le caryosome de notre Amibe il nous fut impossible malgré de très

nombreuses tentatives de mettre en évidence un point central semblable. Tout ce que nous pouvons ajouter à cette occasion c'est que à plusieurs reprises nous avons pu distinguer, mais seulement dans les noyaux des kystes une zone intermédiaire entre la membrane et le caryosome et constitué par l'alignement circulaire d'un grand nombre de grains chromatiques (fig. 10, pl. I) ressemblant beaucoup aux figures données par Hartmann (1908, b). On pourrait objecter que nous devons notre échec à une technique défectueuse et qu'avec une meilleure différenciation nous aurions pu aussi distinguer un centriole dans le caryosome. C'est là une objection à laquelle il est difficile de répondre.

Il existe bien dans les kystes de l'*Entamoeba minuta*, ainsi qu'on le voit plus loin, un corpuscule présentant les caractères morphologiques et l'évolution d'un appareil centrosomique situé en dehors et à côté du noyau chez lequel on arrive parfois à décélérer un point central mais cela ne correspond pas au point central intracaryosomique de Hartmann, puisqu'il est extranucléaire. Il serait peut-être prudent pensons nous, de ne pas trop généraliser l'opinion que chez toutes les espèces amibiennes il y aurait dans le caryosome un corpuscule central, et de dire quand on ne peut pas le mettre en évidence que c'est à cause de la chromatine qui le couvre et le rend invisible, comme le font Nägler, et Rosenbusch (1908, Trypanosomes et Hétéridium).

Génération.

Multiplication agame — Schizogonie.

Nous ne croyons pas que l'*Ent. minuta* se multiplie habituellement par une schizogonie simple, c'est-à-dire par une simple division; car parmi les centaines de préparations que nous avons eues entre les mains nous n'en avons jamais pu en observer. Par contre nous y avons trouvé un grand nombre des individus à l'état végétatif portant quatre petits noyaux, le parasite étant au repos (fig. 3, 4, pl. I) ou en mouvement et présentant un pseudopode (fig. 28, pl. I). Que peuvent être ces individus multinuclées sinon des schizontes murs? — Il ne peut être question ici d'une préparation à une évolution sexuelle qui se passe, comme on le verra, exclusivement dans les kystes. — Etant donné l'invisibilité du noyau de notre Amibe et l'impossibilité qui en résulte de faire des observations sur l'individu vivant nous avons été obligé pour nous orienter dans ce travail d'avoir recours à l'étude d'éléments colorés.

Le noyau de l'Amibe se divise en quatre petits noyaux par deux mitoses successives. La figure 2 (pl. I) montre un tel schizonte avec deux grands fuseaux ovalaires qui donneront lieu à ces quatre noyaux, parfois réunis deux par deux et portant une calotte semilunaire de chromatine, signe de leur récente division (fig. 3, pl. I). La figure à côté représente une période ultérieure où les noyaux filles sont déjà d'aspect presque normal quoique encore très petits. En outre nous avons trouvé dans nos préparations de toutes petites Amibes de 7 μ qui ne sont pas autre chose que le produit d'une récente schizogonie. La disproportion de leurs noyaux (fig. 39) avec ceux des Amibes à l'état végétatif (fig. 38) provient de ce que ces dernières sont dessinées avec l'oculaire 6 et le premier avec l'oculaire 12.

Par conséquent la schizogonie multiple se réalise par une division mitotique du noyau principal, laquelle se répète deux fois donnant lieu à quatre noyaux, à quatre jeunes Amibes.

Quant aux détails des fuseaux, nous ignorons s'il y a formation de plaque équatorial et des chromosomes individualisés, car nous n'en avons vu qu'au début de leur kinèse. Néanmoins ils paraissent par leur aspect général suivre plutôt les processus d'une mitose primitive, d'une „promitose“ comme l'appelle Nägler. Nous trouvons inutile d'en donner une plus ample description, l'évolution mitotique se développe ici comme dans la plupart des cas analogues. Il y a à se demander seulement ce que devient le caryosome dont on ne voit pas trace dans nos fuseaux; et où se loge ce centriole qui joue un rôle si important dans les mitoses des autres Amibes.

Multiplication sexuelle — Enkystement — Chromidies.

On sait d'après les travaux de Schaudinn (1903) que vers la fin d'une crise dysentérique aiguë, quand l'état du malade commence à s'améliorer les Amibes ne tardent pas à s'enkyster; le contraire est peut être plus vrai: quand le parasite épuisé par une longue multiplication agamique est sur le point de périr, il se régénère par une reproduction sexuelle, en l'espèce par une autogamie qui commence dès le début de l'enkystement. Donc, le meilleur moyen pour étudier ce phénomène serait d'examiner les matières fécales du malade pendant la convalescence. Mais dans un cas de dysentérie chronique, comme dans le nôtre par exemple, cela étant impossible, nous avons eu recours au moyen simple indiqué par Schaudinn, c'est-à-dire que nous avons recueilli les évacuations du malade 1 ou 2 jours après une purgation, quand elles commençaient à être d'une consistance semiliquide, et contenaient une infinité d'Amibes sur le point de s'enkyster. Dans des cas favorables on peut ainsi observer toutes les phases de l'autogamie sur 3—4 préparations. Ajoutons qu'en raison de la non-visibilité du noyau nous ne pouvions pas penser dans ce cas non plus à l'observer chez l'individu vivant, et nous nous sommes contentés à l'examiner après fixation et coloration.

Les phénomènes de l'enkystement chez les Amœbides varient trop peu d'une espèce à l'autre surtout en ce qui concerne les modifications du protoplasma pour qu'il soit nécessaire de les énumérer encore une fois. Mais il n'en est pas de même des modifications nucléaires, beaucoup plus importantes, et qui méritent d'être signalées. C'est d'abord le volume du noyau qui augmente progressivement jusqu'à atteindre 4μ et plus (il mesurait au début $2\frac{1}{2}$ — 3μ) présentant alors un aspect clair vésiculeux et quelque peu boursoufflé. La chromatine en majeure partie refoulée vers la membrane forme sur la surface externe de celle-ci par endroit des bandes semi lunaires qui se détachent au fur et à mesure qu'elles se forment et se fusionnent entre elles. C'est là l'origine des blocs de chromidies qu'on trouve presque toujours dans les kystes. La production de ces masses chromidiales est donc le premier signe du mouvement évolutif du noyau et on peut les trouver même déjà dans le protoplasma des individus à l'état végétatif (fig. 7, pl. I), avant la formation de la membrane kystique. A ce stade le caryosome est encore présent, il ne disparaîtra que lorsque l'enkystement sera nettement dessiné par la sécrétion des couches externes protectrices (fig. 11, pl. I); il est rare qu'il persiste plus longtemps (fig. 9, 10, pl. I). Chez notre espèce l'enkystement n'évolue pas comme chez l'Ent. tetragena, à la fin des phénomènes sexuels (Hartmann) ni du reste au début; il paraît suivre très irrégulièrement les phénomènes intimes de la cellule parasitaire, et varie considérablement d'un individu à l'autre (voir la pl. I).

Autogamie.

Les phénomènes sexuels que nous allons décrire varient à peine par quelques détails plus ou moins intéressants de ceux étudiés par Schaudinn chez l'Ent. coli. Le seul point qui constitue une différence importante entre l'évolution de ce dernier parasite et le notre, est l'absence dans notre cas d'un réseau chromidial donnant naissance aux noyaux secondaires. Dans nos kystes on peut suivre les divisions du noyau primitif sans interruption, et les noyaux filles qui copulent après réduction proviennent directement de lui. Ce même fait a été d'ailleurs constaté pour l'Ent. tetragena par Hartmann, mais à part ce point, le type d'autogamie observé par Schaudinn reste fondamental, au moins pour ce qui concerne certaines Amibes parasites.

Le rôle des énormes masses de chromidies intrakystiques est donc purement végétatif. Elles servent probablement comme un appoint de chromatine aux noyaux qui vont se développer et, à cet égard leur disparition progressive, parfois même totale à la fin de l'évolution de l'animal est fort significative. Leur présence dans les kystes attire l'attention et pourrait même être considérée comme étant caractéristique pour quelques espèces, pour la nôtre par exemple, et l'Ent. tetragena. Rappelons cependant que dans les kystes de l'Ent. coli on peut constater exceptionnellement des chromidies en blocs et dans les cas d'infection mixte ceci peut provoquer une erreur et faire confondre les kystes des deux espèces infectantes. La fig. 53 (pl. II) montre un kyste appartenant incontestablement à l'Ent. coli puisqu'il contient huit noyaux récemment formés, avec à côté la fameuse masse chromidiale, en tout point pareille à d'autres jusqu'ici étudiées.

Quand le noyau a déjà expulsé tout ce qu'il pouvait produire de chromatine il est prêt à se diviser. Son volume est énorme, $6\ \mu$. Son caryosome disparu, ou bien il est fragmenté (fig. 44, pl. II) et sa forme sphérique, devient de plus en plus ovale. Le fuseau de la première karyokinèse (fig. 12, pl. I) est long de $7\ \mu$. Extérieurement il est limité par la membrane nucléaire, et intérieurement il est constitué par la substance achromatique transformée en fibres épaisses, de nombre limité 3 à 5 et tendues parallèlement entre les deux pôles. Au début de la mitose ces fibres très visibles grâce aux granulations de chromatine qui les couvrent en majeure partie deviennent dans la suite moins nettes à mesure que ces granulations sont refoulées vers le centre du fuseau pour former la plaque équatoriale (fig. 13, pl. I).

Aux deux extrémités du fuseau, au point où convergent les filaments achromatiques, se trouvent logés deux tout petits points assez faiblement imprégnés par l'hématoxyline ferrique. — Sont-ce là des centrioles? Il est difficile de répondre d'une façon sûre à cette question, étant donné la petitesse de leur volume ($0,2\ \mu$) et leur aspect peu net. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle nous nous sommes abstenus de les représenter dans les figures 12, 13, 18, d'autant qu'il aurait été impossible de les faire figurer fidèlement sous leur forme incertaine, même en prenant le soin de les dessiner aussi petits que possible. Mais quoiqu'il en soit, que peuvent-ils être sinon des centrioles? Nous regrettons seulement que des kystes avec des fuseaux à ce stade n'aient pas été assez nombreux dans nos préparations pour nous permettre de répéter en grand nombre ces observations.

Une particularité très curieuse dans la conformation des mêmes

fuseaux (1^e et 2^e réduction) c'est la façon dont sont formées leurs extrémités (fig. 18, pl. I). A ce niveau la membrane nucléaire qui les limite paraît cesser ou, pour mieux dire, se soulever en une espace triangulaire ainsi que Brasil l'a observé dans les fuseaux des *Monocystis* du Lombric (1905).

Dans les préparations colorées avec la méthode de Mann ces figures karyokinétiques se colorent en rouge vif dans leurs parties achromatiques et offrent un contraste très agréable à l'œil avec la teinte légèrement rose du protoplasma.

Au stade de plaque équatoriale, les chromosomes ne sont ni assez volumineux ni assez isolés pour pouvoir les compter et les étudier minutieusement. Nous avons pu remarquer et dessiner seulement sur divers plans optiques que plusieurs d'entre eux étaient en train de se dédoubler (fig. 13, pl. I). Dans le kyste à côté on assiste à la fin de cette première mitose. Le fuseau démesurément allongé occupe tout le diamètre du kyste; sa partie médiane étranglée, réduite à un gros filament relie encore deux extrémités piriformes, toutes prêtes à se détacher pour former les noyaux filles. Cette dernière étape du fuseau rappelle beaucoup les figures karyokinétiques des Ciliata; nous avons déjà eu l'occasion de signaler des figures mitotiques semblables chez l'*A. blattae* (1909), ils paraissent être très fréquentes chez les Amibes.

Les noyaux qui résultent de cette première division (fig. 16) sont parfois inégaux (fig. 15); leur diamètre mesurant approximativement 4 μ , caractérise les kystes qui les contiennent.

Bientôt chacun de ces deux noyaux se divisera à nouveau successivement (fig. 17, pl. I) ou simultanément (fig. 18 même pl.) pour donner lieu à quatre noyaux dont deux persisteront et deux autres périront, laissant à leur place deux corpuscules de réduction (fig. 19, 21, 22, pl. I). Mais avant que ces deux derniers noyaux disparaissent, et alors qu'ils semblent en apparence encore intacts on peut les reconnaître à l'aide d'une coloration au bleu de méthyl et éosine. Ils prennent uniformément une teinte légèrement bleue, tandis que les autres, ceux qui vont persister, se colorent en rouge intense dans leurs parties achromatiques. Avec l'hématoxyline ferrique les noyaux condamnés sont à un moment plus avancé d'un on trouble (fig. 23, pl. I).

Dans la seconde division de réduction la forme des fuseaux varie considérablement surtout dans la période finale de la mitose. Alors qu'une des extrémités des fuseaux est en voie de se transformer en un noyau normal pourvu d'un caryosome, le reste s'atrophie et se ratatine (fig. 20, pl. I). Ils rappellent en cela de trop près la fin de la seconde mitose que Prowazek a vu dans l'autogamie des *Trichomastix* (voir Hartmann, Autogamie 1909).

Il y a parfois un très grand anachronisme entre l'évolution des noyaux se destinant à la fécondation, ainsi qu'on peut s'en rendre compte à l'examen du kyste indiqué au No. 24 de la pl. I. Après la première mitose de réduction attestée par le gros corpuscule de chromatine massive placée à côté, un des noyaux est resté au repos, tandis que l'autre est déjà divisé, donnant lieu à deux noyaux filles, dont l'un est en train de périr. Ceci démontre d'une façon péremptoire qu'avant la copulation, les noyaux de la première division subissent bel et bien deux mitoses successives de réduction. Après quoi les noyaux purifiés se rapprochent en attendant la fusion prochaine. A ce moment leur volume est très diminué, ils ne mesurent pas plus que 2½ μ . Leur

nombre, leur dimension, et leur position superposée (fig. 25, pl. I) peuvent caractériser cette période essentielle de l'évolution.

La copulation, autrement dit la fusion intime, se produit alors par un processus aussi ingénieux que logique. Le point de la surface par lequel les noyaux sont en contact se résorbe petit à petit, les caryosomes disparaissent et le contenu nucléaire ne trouve aucun obstacle à se mélanger (fig. 26, pl. I). Leur ensemble légèrement allongé présente d'une façon vague l'aspect d'un fuseau, dont l'intérieur, constitué uniquement par des éléments achromatiques, laisse voir à peine quelques rares filaments. C'est seulement beaucoup plus tard que les granulations chromatiques y apparaissent. La figure 27 (pl. I) nous montre un beau noyau de copulation accompagné de deux groupes de corpuscules de réduction, les uns anciens à l'aspect homogène et massif, les autres récents portant encore quelques vestiges de la membrane nucléaire.

Telles sont les diverses étapes de l'évolution sexuelle qui préparent l'*Ent. minuta* à la sporulation et qui se réduisent, comme on l'a vu, à une autogamie du type „extrême“ d'après la classification de Hartmann.

Pour en finir avec la formation des kystes nous n'avons plus qu'à décrire la division du noyau de copulation se produisant deux fois successivement et aboutissant aux quatre petits noyaux définitifs. Ici le point le plus intéressant est incontestablement la réapparition des mitoses primitives, et cela se conçoit facilement, car dans les bipartitions qui vont suivre le partage de la chromatine en deux exige moins que dans la réduction, une rigoureuse exactitude. Nous retrouvons alors ces fuseaux ovalaires (fig. 29, 30, pl. I) que nous avons antérieurement connus chez notre Amibe à l'état végétatif se préparant à la schizogonie. Dans les figures que nous venons d'indiquer un des fuseaux est hétéropolaire, ayant la grande partie de sa chromatine refoulée à une de ses extrémités, ce qui indique encore une fois, le peu de nécessité qu'il y a dans ces divisions ultimes d'un partage égal de la chromatine entre les noyaux filles. Et c'est peut être là la raison d'être des mitoses primitives, si prodigieusement variables, et d'autre part si difficiles à caractériser.

La kyste indiqué à la fig. 31 (pl. I) nous montre un fuseau sur le point de se séparer en deux; un léger étranglement à son milieu nous montre comment cela doit avoir lieu, et nous explique, vu la position de la chromatine, l'aspect parfois si bizarre des quatre noyaux définitifs (fig. 31, pl. I).

Enfin quand tout est fini, un kyste normal de l'*Ent. minuta* se présente sous la forme d'un petit corpuscule ordinairement sphérique, rarement ovalaire, ayant un diamètre de 12 μ . On peut en trouver aussi de 10 μ , exceptionnellement de 14 μ ; un kyste de 16 μ est certainement étranger à l'espèce que nous étudions. Répétons que la dimension de 12 μ pour ses formes enkystées est aussi constante que celle de 14 μ pour ses formes à l'état végétatif.

Ce kyste est entouré par une double membrane gélatineuse très mince, dont l'intérieure est plus visible; l'extérieure se laisse difficilement distinguer à cause de son extrême minceur et aussi sa très faible coloration. Le protoplasma du kyste d'habitude d'aspect granuleux parce qu'il est finement réticulaire, peut être parfois très grossièrement alvéolaire, ce dont on se rend compte du reste par l'examen des figures de nos planches. A l'intérieur du kyste le nombre des noyaux toujours

égal à quatre est caractéristique, pour notre espèce, de même que pour l'Ent. tetragena. Ceux qu'on rencontre avec 3 noyaux sont assurément d'individus dégénérés, destinés à périr.

Un fait très curieux et qui a souvent attiré notre attention, c'est la présence dans les kystes d'un petit cercle de chromatine, placé à un de ses pôles et intensément colorable; c'est probablement les restes des noyaux périss (fig. 35, pl. I).

Avant de finir ce chapitre nous revenons encore une fois à ce petit corpuscule mesurant à peine $0,4 \mu$ situé à côté du noyau, et trouvé souvent en train de se dédoubler (fig. 1, pl. I). D'habitude il est recouvert d'une couche de chromatine, et dans ce cas on peut le colorer même par les colorants anilines basiques (24 heures) mais quand il se trouve débarrassé de cette couche, qui forme alors tout autour une zone nuageuse, il y a nécessité d'avoir recours à des imprégnations très fortes avec l'hématoxyline ferrique (fig. 47, pl. II). C'est ainsi par exemple qu'on le trouve le plus souvent dans les kystes, divisés en deux points qui restent reliés par un long filament; l'ensemble rappelle bien une figure mitotique (fig. 21, 33, 34, pl. I, fig. 50, pl. II) et où tout l'élément achromatique (centrodesmose, centrolinine, Heidenhain) est réduit à un filament central. Cette partie intermédiaire entre les deux corpuscules terminants (centrioles?) n'est point intensément colorée comme ces derniers; elle accuse une teinte grise foncée ou à peine noire. Il n'est pas rare qu'après une première division le corpuscule en question en subisse une seconde, et qu'on en trouve ainsi quatre dans le même kyste achevant leur mitose (fig. 23, 34, pl. I). Leur volume diminue à mesure qu'ils se multiplient, de sorte qu'à la fin on a plus de difficultés à les colorer et à les distinguer. N'oublions pas d'ajouter qu'on trouve cet élément corpusculaire surtout dans les kystes à quatre noyaux, n'ayant pas encore achevé, ou à peine, leur enkystement. Dans les formes végétatives de l'Amibe il n'est pas très commode de les distinguer au milieu de nombreuses granulations éparpillées dans le protoplasma. Deux fois cependant il nous a été donné à le trouver dédoublé à l'intérieur d'individus prêts à se diviser, et ne contenant pas de corps étrangers (fig. 1, pl. I).

Quelle interprétation donner de cet élément morphologique? Il est certain que dans les figures de division que nous venons de signaler on aurait pu le prendre pour un grain de chromidium égaré, ou un parasite accidentel de l'Amibe. Mais ni l'un, ni l'autre de ces objets peuvent être raisonnablement confondus avec ce corpuscule qui par sa position, son évolution, et surtout par sa réaction colorante n'a rien à voir avec eux. Il s'agit, pour nous, selon toute vraisemblance, d'un appareil centrosomique contenant un point central difficile à mettre en évidence au repos. On se demande seulement où réside ce centrosome ou plus exactement son point central pendant les mitoses dans les fuseaux ovalaires primitifs dont il a été tant de fois question au cours de cet exposé? Le caryosome même ne paraît pas jouer un grand rôle dans ces promitoses bien que suivant Hartmann et ses élèves il doit être toujours ou presque le siège du centriol. Les figures données par eux sont très suggestives sous ce rapport et nous même dans les dernières mitoses des kystes de l'Ent. coli (fig. 48, pl. II) nous avons eu l'occasion d'observer des fuseaux où le rôle des caryosomes paraît incontestable. Malheureusement il n'en est pas ainsi chez l'espèce que nous étudions, et la situation parfois extranucléaire du corpuscule observé peut de prime abord paraître peu conforme aux notions créées

dans ces dernières années sur le rôle des nucléo-centrosomes, ou d'après les idées récentes, caryosomo-centriole. Cependant à bien considérer les choses la position extranucléaire de ce corpuscule, c'est à dire de l'appareil centrosomique signalé par nous peut témoigner de la perfection de sa fonction comme cela a lieu dans les cellules des métazoaires, et ne nous empêche nullement de reconnaître sa vraie nature. Nous pensons qu'au repos ce corpuscule occupe un point quelconque dans les noyaux et que dans les fuseaux ovalaires (primitifs) il se dirige en dehors du noyau pour se diviser, puis réintègre celui-ci occupant ses deux sommets arrondis, et où des masses de chromatine les couvrent et les rend méconnaissables. Mais pourquoi cette nécessité d'émigrer hors du noyau pour se dédoubler?

Quelques considérations sur la pathogénie de l'*Entamoeba minuta* et des autres espèces amibiennes de l'intestin humain.

Il existe, avons-nous dit, deux espèces d'Amibes dans le contenu intestinal de notre malade: l'Ent. coli et l'Ent. minuta. Il est donc intéressant de savoir que la même personne fut atteinte à deux époques très éloignées de sa vie (avec une intervalle de 15 ans) de dysentérie aiguë. La première, très sérieuse pendant un voyage en Asie mineure et l'autre à Assomption (Paraguay) quelques mois après son arrivée dans ce dernier pays. Cette dernière attaque quoique peu bruyante comme période initiale a laissé néanmoins des suites très fâcheuses au point de vue de l'état général du patient. Voici en résumé son histoire:

En arrivant au Paraguay (1900) il fut pris d'une légère diarrhée donnant lieu à 2 ou 3 évacuations quotidiennes sans provoquer des coliques ni affaiblissement des forces. Les médecins de la localité ayant déclaré que ces troubles très fréquents chez les nouveaux acclimatés avaient pour cause la réaction calcaire des eaux potables, on n'y attacha pas une grande importance bien que la diarrhée ait persisté longtemps après. A l'approche des grandes chaleurs et à la suite de quelques écarts de table, notre patient fut atteint de dysentérie aiguë, presque sans hémorrhagie, il est vrai, mais suivi du cortège classique du mal. Elle disparaît dans un quinzaine de jours grâce à un régime diététique approprié; néanmoins des troubles intestinaux fort ennuyeux persistent, entre autres cette diarrhée sans colique qui se montre rebelle à toute espèce de traitement. A cette époque les connaissances sur la dysentérie amibienne n'étant pas aussi développées qu'aujourd'hui la présence d'Amibes dans les selles n'attira pas d'une façon particulière l'attention des médecins et les soins adoptés restèrent limités à quelques prescriptions hygiéniques.

Il se produisit cependant après trois mois une rechute à la suite de laquelle l'état général du malade donnait lieu, paraît-il, à des inquiétudes. Un léger ballonnement du ventre avec flatulence après les repas d'une part, les évacuations fréquentes, la production d'énorme quantité de gaz de l'autre, fatiguait beaucoup le patient. Bientôt apparurent quelques symptômes d'insuffisance hépatique avec céphalée et vomissements, rendant cette fois sa situation fort critique. Enfin au commencement de la sixième année de son séjour au cours d'une influenza grave apparaissent subitement de signes graves d'altérations hépatiques: engorgement, douleurs, fièvre, dyspnée etc. obligeant le malade, d'abandonner le pays et de retourner en Europe.

Deux années de repos continu et de régime rigoureux, alternés

avec séjours dans les régions aux climats plutôt froid, ont apporté une sensible amélioration à l'état désespérant antérieur, et c'est à ce moment là que nous avons entrepris l'examen des matières fécales de ce cas si intéressant.

Ce qui caractérise l'état actuel de notre malade c'est le retour à de longs intervalles (4—5 mois) des douleurs hépatiques, des troubles intestinaux avec diarrhée (correspondant à une pullulation des Amibes), et des signes toujours persistants de l'insuffisance hépatique bien que très atténuée. Parfois un état de somnolence accompagné d'abattement physique devient intolérable. En somme, comme on le voit, il s'agit ici d'un cas de dysentérie latente fortement accusée. Il est difficile, après cela, de ne pas admettre pour l'Amibe trouvée dans le contenu intestinal de notre malade une action nocive, alors même qu'on serait sceptique comme beaucoup d'auteurs pour le rôle de ces Protozoaires dans la dysentérie aiguë. Notre thèse n'est pas de défendre ici la spécificité des Amibes dans la pathogénie de cette affection, bien que nous en soyons tout à fait convaincus. Nous voulons surtout mettre en évidence comme cela saute aux yeux dans le cas que nous rapportons, le rôle néfaste des Amibes de l'intestin sur l'organisme entier, en créant un état morbide chronique très compliqué qu'il importe de connaître de mieux en mieux. Pour nous il n'y a pas de dysentéries amibiennes (syndrome complexe) mais seulement des infections amibiennes dues à telle ou telle espèce. L'action nuisible de ces parasites sur l'économie humaine à des degrés plus ou moins sensibles commence dès qu'ils pénètrent dans son intestin. A partir de ce moment l'hôte est non seulement sous le coup d'une dysentérie imminente ou de ses terribles conséquences, il est aussi atteint d'une infection chronique dont les effets apparents seront infiniment variables selon les conditions extérieures et intérieures par rapport à son organisme.

Si les travaux de Schaudinn ont eu le grand mérite de mettre en lumière ce fait capital: la diversité des espèces amibiennes chez l'homme, ils en ont eu beaucoup moins d'après nous, d'avoir créé cette fausse conception „d'Amibe non pathogène“. Il n'est pas certain que l'Ent. coli soit un parasite aussi inoffensif qu'on le croit. Et Gasser, quelque sceptique qu'il puisse être sur le rôle pathogène des Amibes, a tout de même constaté, 45 fois sur 109 cas de dysentérie, la présence de l'Ent. coli (cité par Patrick Manson). D'ailleurs a-t-on jusqu'ici examiné systématiquement les selles dans les cas de dysentérie nostras? Est-on sûr que là où l'Ent. histolytica fût diagnostiqué, il ne s'agissait pas parfois d'autres espèces? Viereck dit avoir trouvé son Amibe chez des personnes non-dysentériques comme d'autres qui ont fait des observations analogues concernant les autres Amibes connues.

Pourquoi l'Ent. histolytica qu'on trouve en Asie dans l'intestin des indigènes non-dysentériques, en apparence bien portants, ne pourrait-elles pas être considérée pour cette région comme une espèce inoffensive, comme nous le faisons pour ce qui est de l'Ent. coli. Il n'est donc pas invraisemblable d'admettre que l'Ent. coli soit capable de produire des troubles locaux et généraux dans notre organisme, à un degré moindre si l'on veut, que ses espèces similaires, reconnues plus pathogènes, sans que pour cela il soit nécessaire d'aller dans les colonies. La sensibilité individuelle et mille autre circonstances peuvent être dans nos régions des facteurs suffisants pour varier à l'infini l'aspect général

des troubles que nous étudions et que nous appellerons „amibisme chronique“, si nous pouvions nous exprimer ainsi.

Les effets généraux d'une infection amibienne constituent un problème fort intéressant sur lequel l'attention des savants n'a pas été jusqu'ici suffisamment attirée. Cependant quelques faits rapportés par Jürgens (1902) et autres méritent d'être considérés. Cet observateur dit que les chats soumis à l'infection amibienne artificielle présentaient une somnolence avec exacerbation progressive parfois à tel point que les animaux ne pouvaient plus se tenir debout et paraissaient paralysés du train antérieur. Chez les personnes souffrant de dysentérie latente le même fait a été fréquemment observé et notre malade est désespéré de ne pas pouvoir s'en débarrasser. Avant que les sécrétions nocives de l'Amibe atteignent le système nerveux il faut qu'elles traversent le foie dont les cellules ne sont pas moins délicates, moins altérables que celles de l'organe précédent. On conçoit facilement ainsi comment se développerait l'insuffisance hépatique et d'autres troubles fonctionnels chez les porteurs d'Amibes, et combien il serait rationnel d'examiner les matières fécales, à notre point de vue, des personnes qui souffrent de l'intestin et du foie. Peut-être ce faisant on pourrait éclaircir plus d'un point concernant l'origine des troubles hépatiques. Les partisans de la théorie intestinale des mêmes troubles incriminant actuellement le chimisme de cet organe peuvent avoir raison dans certains cas en ramenant la cause première à la faune intestinale autant qu'à sa flore. On connaît les intéressants travaux de Metchnikoff sur cette dernière et les idées nouvelles qu'ils apportent, mais il est urgent que parallèlement à ces recherches un nouveau chapitre s'ouvre dans la pathologie du tube digestif et de ses annexes pour une étude systématique des Protozoaires de l'intestin, parmi lesquels les Amibes jouent certainement un rôle prépondérant.

Institut Pasteur, Août 1909.

Index bibliographique.

- Councilman et Lafleur, The Johns Hopkins Hosp. Rep. Vol. 2. 1891. No. 7—9.
 Casagrandi et Barbagallo, *Entamoeba hominis* s. *Amoeba coli* (Lösch). (Annali d'Igiene speriment. Vol. 7. Fasc. 1.)
 Doflein, F., Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. (Arch. f. Protistenk. Suppl. 1.)
 Dangeard, P., Parasites du noyau et du protoplasma. (Le Botaniste. Fasc. 6.)
 Elmassian, M., Contribution à l'étude de l'*Amoeba blattae* Bütschli. (Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1909.)
 — —, Une nouvelle Coccidie et un nouveau parasite de la Tanche. (Arch. de Zoolog. expér. T. 2. No. 4. 1909.)
 Hartmann, M. und v. Prowazek, S., Blepharoplast, Karyosom und Centrosom. (Arch. f. Protistenk. Bd. 10.)
 Hartmann, M., Eine neue Dysenterieamöbe. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12.)
 Jäger, Centralbl. f. Bakteriologie etc. Abt. I. Bd. 31 u. Bd. 32. 1902.
 Jürgens, Zur Kenntnis der Darmamöben und der Amöbendysenterie. (Veröff. a. d. Gebiete d. Militär-Sanitätswes. 1902. H. 20.)
 Kartulis, In Nothnagel und Kolle-Wassermann, Spez. Pathol. u. Therapie. Bd. 5 und Pathogene Mikroorg. Ergänzungsb. Bd. 65.
 Kruse-Pasquale, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 16. 1894.
 Lösch, Virchows Arch. Bd. 65.
 Musgrave and Clegg, Publ. of the Bur. of Govern. Labor. Biol. Lab. Manila. 1904. No. 18.
 Metchnikoff, E., Etude sur la nature humaine. Paris (Masson) 1903.
 — —, Etude sur la flore intestinale. (Ann. Inst. Past. 1908. Déc.)
 Nägler, K., Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. (Arch. f. Protistenk. Bd. 14. 1909.)

- Prandtl, H., Entwicklungskreis von Allogromia. (Arch. f. Protistenk. Bd. 9. 1907.)
 v. Prowazek, S., Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 21. 1904.)
 Rosenbusch, F., Kern und Kernteilung bei Trypanosomen und Halteridium. (Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1905. Beiheft No. 5.)
 Schaudinn, F., Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 19. H. 3.)
 Viereck, H., Studien über die in den Tropen erworbene Dysenterie. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907. Beiheft 1.)

Explication des planches.

- Fig. 1. Amibe à l'état végétatif prête à se diviser. Petit corpuscule prénucléaire dédoublé.
 Fig. 2. Amibe à l'état végétatif contenant 2 fuseaux ovalaires. Schizogonie.
 Fig. 3, 4. Amibes avec 4 noyaux. Schizogonie. Dans la première les noyaux sont entourés d'une calotte de chromatine. Division toute récente.
 Fig. 5, 6, 7. Amibes à l'état végétatif. La première avec un seul pseudopode; la seconde avec plusieurs pseudopodes; la troisième contient une masse chromidiale.
 Fig. 8, 9, 10, 11. Jeunes kystes, qui montrent le processus de la production des chromidies et la préparation du noyau à la division.
 Fig. 12. Premier fuseau; masse chromidiale; vacuoles.
 Fig. 13. Le même fuseau à la période de plaque équatoriale; masses de chromidies; vacuoles.
 Fig. 14. La fin de la première mitose; étirement du fuseau.
 Fig. 15, 16. Kystes après la première division du noyau primitif. Dans le premier kyste noyaux inégaux.
 Fig. 17, 18. Jeunes kystes dont les noyaux subissent la seconde division (1^{re} mitose de réduction). A remarquer dans le second kyste les extrémités des fuseaux.
 Fig. 19. Etat du kyste après la seconde division du noyau primitif (après la première mitose de réduction). Deux noyaux avec à côté deux corpuscules de réduction.
 Fig. 20. Kyste présentant la troisième division du noyau primitif (seconde mitose de réduction); avec deux corpuscules de réduction et une masse de chromidium et vacuoles. Petits corpuscules, ou centrosomes (?) dont un en voie de se diviser une seconde fois.
 Fig. 21. Kyste avec 4 noyaux dont deux doivent périr.
 Fig. 22. Kyste à 4 noyaux dont deux en train de périr.
 Fig. 23. Kyste avec 4 noyaux, dont deux périssent par atrophie, et sont sombrement colorés par l'hématoxyline ferrique. Quatre centrosomes dont deux hypertrophiés et sur le point de se dégénérer.
 Fig. 24. Kyste après la première mitose de réduction. Un des noyaux à l'état de repos; l'autre s'est divisé et donne lieu à un noyau dégénéré; à côté le reste de la première division de réduction.
 Fig. 25. Kyste avec 2 noyaux qui vont copuler; corpuscule chromatique attestant les réductions subies.
 Fig. 26. Kyste avec fuseau de copulation. On voit encore la moitié de la membrane de chaque noyau en copulation dont s'est légèrement allongée. A côté corpuscule de réduction.
 Fig. 27. Kyste avec noyau de copulation prêt à se diviser. Quatre corpuscules de réduction, deux anciens très massifs, deux récents (les derniers) présentant quelques vestiges de la membrane nucléaire.
 Fig. 28. Amibe à l'état végétatif avec 4 noyaux et un pseudopode. Schizogonie.
 Fig. 29, 30. Kyste après copulation. Dans le premier noyau de copulation avec 2 restes de noyaux péric. Dans le second le noyau est en division (fuseau ovalaire et hétéropole); une vacuole et corpuscule de réduction.
 Fig. 31. Kyste présentant une période plus avancée que le précédent. Après une première division, les deux noyaux se divisent à leur tour pour donner lieu à 4 noyaux. Un fuseau de cette seconde division post-copulatoire.
 Fig. 32. Kyste à 4 noyaux définitif avec le fameux corpuscule non divisé (Centrosome?).
 Fig. 33, 34. Kyste à 4 noyaux, avec une mitose du centrosome. Dans le second kyste la seconde mitose du centrosome.
 Fig. 35. Kyste définitif à 4 noyaux avec un cercle polaire chromatique, probablement reste des noyaux péric.
 Fig. 36a, b, c, d. Amibes à l'état végétatif (dessinées avec l'oculaire compensateur

No. 6 et l'immersion apochromatique No. 2) à l'état frais. Noyaux invisibles. Pseudopodes unique simple ou lobé (c). Formes de parasites à l'état frais les plus communes.

Fig. 37, 40. Individus nus (dessiné avec oc. No. 12) de *Chlamydomphrys stercoria*. Membranes nucléaires à peine manifestes.

Fig. 38a, b, c. Amibes à l'état végétatif au repos et en mouvement (dessinées après coloration, avec oc. compensateur No. 6). On remarquera qu'à l'état de repos il n'existe aucun ectoplasma (a, c).

Fig. 39. Jeune Amibe récemment produite par la schizogonie mesurant à peine 7 μ (dessiné avec l'oc. comp. No. 12).

Fig. 41. Amibe à l'état végétatif ayant englobé un parasite étranger, probablement un élément de *Chlamydomphrys stercoria*.

Fig. 42. Ent. coli à l'état végétatif; noyau avec caryosome divisé en 4; un petit grain de chromidium à côté.

Fig. 43. Amibe avec parasites enkystés qui laissent échapper de spores.

Fig. 44. Noyau d'Amibe enkystée se préparant à la division. Période où le caryosome disparaît et la structure devient nettement réticulaire (figure schématisée).

Fig. 45. Amibe enkystée avec 3 parasites à l'intérieur, un à l'état végétatif avec son noyau en division, les deux autres enkystés, pleines de spores.

Fig. 46. Kyste avec deux fuseaux altérés.

Fig. 47. Kyste dont le noyau est à l'état de repos; à côté le petit corpuscule en question entouré d'un nuage de chromatine, se préparant à se diviser.

Fig. 48. Kyste d'Ent. coli avec 4 noyaux dont un en division, avec une figure de mitose du caryosome.

Fig. 49. Kyste tout à fait au début de l'enkystement. Noyau se transformant en fuseau; à côté un centrosome sur le point de se dédoubler; chromidies, vacuole énorme au centre du kyste, et une petite masse de chromidium en bâtonnet.

Fig. 50. Kyste avec 4 noyaux, d'un d'eux semble couvrir une partie de la division d'un centrosome.

Fig. 51. Kyste avec 4 noyaux récemment formés, et entourés de leurs calottes de chromatine.

Fig. 52. Kyste d'Ent. coli, avec 4 noyaux dont deux en mitose.

Fig. 53. Kyste d'Ent. coli, avec 8 noyaux à peine formés, sans caryosomes; à côté une masse de chromidium.

Nachdruck verboten.

Le paludisme des oiseaux en Grèce.

Étude biologique et histologique du parasite de Danilewsky.

Par le Dr. Jean P. Cardamatis,

Professeur agrégé des maladies des pays chauds à la Faculté d'Athènes etc.

Avec 2 planches et 3 figures.

Halteridium Danilewsky.

Le parasite de Danilewsky, un des hématozoaires des oiseaux découvert par ce savant docteur en 1886—1887, a beaucoup de points de ressemblance avec le parasite du paludisme de l'homme; c'est un parasite endoglobulaire que l'on trouve souvent chez les oiseaux et le plus fréquemment en Grèce chez le hibou, le moineau, le loriot, le lanier, la fauvette, le chardonneret etc. En Europe, ce parasite, d'après différents observateurs, se rencontre fréquemment chez l'alouette des champs, le geai, le pinson et le pigeon.

Voici la liste des espèces d'oiseaux connues dans le sang desquels ont été trouvés les parasites de Danilewsky.

- | | |
|-------------------------------|----------------------|
| 1. <i>Accentor collaris</i> | |
| 2. <i>Agelaius phoeniceus</i> | |
| 3. <i>Alauda arborea</i> | l'alouette des bois. |
| 4. " <i>arvensis</i> | " des champs. |
| 5. <i>Anthus trivialis</i> | " pipi. |

6. <i>Asio otus</i>	le moyen duc.
7. <i>Bubo</i>	le duc.
8. " <i>virginianus</i>	le duc de Virginie ou hibou couronné.
9. <i>Budyta flava</i>	la bergeronnette jaune.
10. <i>Buteo vulgaris</i>	la buse commune.
11. <i>Carduelis elegans</i>	le chardonneret.
12. <i>Coloeus monedula</i>	le choncas ou petite corneille des clochers.
13. <i>Columba domestica</i>	le pigeon domestique.
14. " <i>livia</i>	le biset ou pigeon sauvage (le pigeon ramier).
15. <i>Carine noctua</i>	la chouette.
16. <i>Circus aeruginosus</i>	le busard.
17. <i>Corvus americanus</i>	
18. " <i>corax</i>	le corbeau.
19. " <i>cornix</i>	la corneille mantelée.
20. " <i>frugilegus</i>	
21. <i>Emberiza cia</i>	l'ortolan de Lorraine ou bruant fou.
22. " <i>miliaria</i>	le proyer.
23. <i>Falco tinnunculus</i>	la cresserelle.
24. <i>Fringilla coelebs</i>	le pinson.
25. <i>Garrulus glandarius</i>	le geai.
26. <i>Hirundo rustica</i>	l'hirondelle de cheminée ou domestique.
27. <i>Lanius excubitor</i>	la pie-grièche grise.
28. " <i>minor</i>	" " d'Italie.
29. " <i>rufus</i>	" " rousse.
30. <i>Melospiza fasciata</i>	
31. " <i>georgiana</i>	
32. <i>Milvus migrans</i>	le milan.
33. <i>Pandion haliaetus</i>	le balbusard ou aigle de mer.
34. <i>Pernis apivorus</i>	le guêpier.
35. <i>Pica caudata</i>	la pie.
36. <i>Passer domesticus</i>	le moineau.
37. " <i>hispaniolensis</i>	
38. " <i>montanus</i>	le friquet.
39. <i>Parus oeter</i>	la mésange petite charbonnière.
40. " <i>palustris</i>	" " des marais ou nonnette cendrée.
41. <i>Perdix</i>	la perdrix.
42. <i>Pratincola rubetra</i>	le tarier ou grand traquet.
43. <i>Philoscopus Bonellii</i>	
44. " <i>rufus</i>	
45. <i>Ruticilla phoenicurus</i>	le rouge-queue.
46. <i>Saxicola oenanthe</i>	le motteux ou cul-blanc.
47. <i>Sitta caesia</i>	la sittelle.
48. <i>Sylvia cinerea</i>	la fauvette grise.
49. <i>Strix flammea</i>	l'effraie ou la fresaie.
50. <i>Syrnium aluco</i>	la hulotte.
51. <i>Sturnus vulgaris</i>	l'étourneau.
52. <i>Troglodytes parvulus</i>	le troglodyte.
53. <i>Spiza</i>	le loriot.

De notre côté nous avons fait des recherches hématologiques sur 37 espèces d'oiseaux ainsi que sur des chauves-souris. Il ressort de nos recherches qu'en outre des 53 espèces connues il y en a encore d'autres, telles que la *Fringilla canabina* la linotte, la *Sylvia rubecula* le rossignol de muraille, la *Fringilla petronia* la soulcie, le *Turtur risorius* la tourterelle, et la *Sitta Syriaca* la sittelle, qui sont infectées, comme l'indique notre tableau ci-dessous.

Les oiseaux que nous avons examinés provenaient de différentes localités ou régions les plus infectées par le paludisme, telles que des quartiers de Vatrachonissi et de Pankration d'Athènes, du village de Marathon, des marais de Vrexisa et de Soulion dans la région de Marathon, de la commune de Phyli, des foyers palustres près de Pylos ainsi que des villages marécageux des communes de Tanagra, de

Chlembotsari, de Bratsi, de Schimatari etc. Ces localités nous les ont fournis dans les proportions suivantes:

Athènes et environs 602 oiseaux examinés			
Marathon	120	"	"
Phyli	118	"	"
Pylos	62	"	"
Tanagra	34	"	"

Total 936 oiseaux examinés

appartenant à 24 espèces qui sont à demeure dans ces localités et à 12 qui sont de passage. Parmi les premières, 3 sont domestiques, 3 sont des oiseaux de proie et 1 est aquatique. Sur les 936 oiseaux, 230 étaient infectés, soit 25,64 %.

Le tableau suivant donne la proportion dans laquelle nous avons constaté l'infection pour chaque espèce:

Espèces d'oiseaux		Nombre de sujets examinés	Nombre de sujets infectés	Proportion %
1. Passer domesticus	le moineau	128	52	46,01
2. " petronia	le friquet	20	—	—
3. Galerita cristata	l'alouette huppée	20	—	—
4. Alauda arvensis	" des champs	18	—	—
5. Columba domestica	le pigeon domestique	44	8	18,18
6. Vespertilio murinus	chauves-souris	24	—	—
7. Oriolus galbula	le loriot	104	36	34,61
8. Carduelis elegans	le chardonneret	74	12	16,21
9. Fringilla cannabina	la linotte	40	2	5
10. " serinus	le serin vert de Provence	2	—	—
11. Sylvia rubecula	le rossignol de muraille	16	4	25
12. " cinerea	la fauvette grise	26	10	38,04
13. Muscicapa grisola	le gobe-mouche	14	4	28,57
14. Parus ater	la petite charbonnière	4	—	—
15. Troglodytes parvulus	le troglodyte	12	—	—
16. Fringilla petronia	la soulcie	26	14	53,84
17. Sylvia sibilatrix et Sylvia cisticola	le bec-figue	86	—	—
18. Caprimulgus europaeus	l'engoulevent	4	—	—
19. Turdus merula	le merle	8	—	—
20. Emberiza melanocephala	la grive	2	2	—
21. Saxicola oenanthe et Saxicola stambajina	le cul-blanc	48	4	8,33
22. Merops apiaster	le guépier	4	—	—
23. Budyta flava	la bergeronnette	2	—	—
24. Oriolus galbula	l'oriolan	2	—	—
25. Lanius excubitor	la pie grièche grise	92	48	52,17
26. " minor	" d'Italie	20	10	50
27. Epops upupa	la huppe	10	—	—
28. Perdix dactylisonans	la caille	8	—	—
29. Turtur risorius	la tourterelle	26	6	23,7
30. Coracias garrula		2	2	—
31. Alcedo ispida	le martin pêcheur	2	—	—
32. Pica caudata	la pie	2	—	—
33. Athene noctua		14	12	85,71
34. Falco aesalon	la buse	4	—	—
35. Glarus argentatus	la mouette	4	—	—
36. Sitta Syriaca	la sittelle	2	—	—
37. Fringilla coelebs	le pinson	18	4	22,22
38. Emberiza miliaria	le proyer	4	—	—
Total		936	230	24,57

Nous voyons par ce tableau que:

Erste Abt. Orig. Bd. 52.

Heft 3.

23

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1° sur 724 oiseaux à demeure 158 étaient infectés, soit 21,79%.

2° sur 212 oiseaux de passage 68 étaient infectés, soit 32,07%.

Parmi les oiseaux à demeure dans les foyers du paludisme, les plus sujets à l'infection sont les moineaux, les loriots, les soulcies, les chardonnerets, les rossignols de muraille, les fauvettes, les chouettes, les pinsons, les gobe-mouches et les pigeons. Dans les autres espèces, dont nous avons examiné un grand nombre de sujets, nous n'avons trouvé de parasites ni dans le sang de circulation périphérique ni dans les entrailles. Nous pouvons en dire autant des chauves-souris, dont nous avons examiné 24 sujets avec le plus grand soin (20 appartenaient à l'espèce commune et 4 étaient des vampires).

Parmi les oiseaux de passage, les plus sujets à l'infection sont les laniers et les tourterelles, tandis que les culs-blancs le sont le moins. Ce qui, pendant notre examen, a grandement attiré notre attention, c'était le résultat négatif dans nos recherches hématologiques et anatomo-pathologiques sur 86 becs-figues (*Sylvia sibilatrix* et *Sylvia cisticola*). Ces oiseaux seraient-ils à l'abri du paludisme avial ou le nombre des sujets examinés aurait-il été insuffisant? Dans tous les cas, ou ces oiseaux jouissent de l'immunité, ou ils ont une très faible morbidité. Parmi les oiseaux de proie, les chouettes sont les plus infectées; en effet, sur 14 individus que nous avons examinés hématologiquement et anatomo-pathologiquement, 12 étaient infectés, soit 85,71%.

L'infection s'est présentée dans les différentes régions dans les proportions suivantes:

Régions	Sujets examinés	Sujets infectés	Proportion %
d'Athènes	602	158	26,24
de Marathon	120	23	19,19
de Phyli	118	24	19,48
de Pylos	62	22	35,48
de Tanagra	34	4	11,76
Total	936	230	24,57

Description du parasite d'après nos observations.

Préparations fraîches. Les jeunes parasites de Danilewsky se présentent sous la forme:

1° de petits corpuscules sphériques, clairs, dont quelques-uns portent un grain de pigment noirâtre et d'autres pas;

2° de petits parasites ovales avec quelques grains de pigment et occupant environ le quart de la moitié de l'hématie;

3° de parasites oblongs, cylindriques ou recourbés à leurs extrémités, dans la longueur de l'axe de l'hématie et avec des grains de pigment, dont quelques-uns se meuvent insensiblement; ces parasites occupent de la moitié aux deux tiers de l'hématie;

4° de petits parasites extracellulaires, sphériques; ils prennent cette forme après la rupture de l'hématie, dont le noyau reste près du parasite; privés de mouvement, ces parasites ont de gros grains de pigment, ce sont les jeunes gamètes;

5° de sphères, mathématiquement rondes, se mouvant autour de leur axe et semblant quelquefois tressaillir; ils ont des grains de pigment à mouvement très vif; quelques-unes de ces sphères portent des flagelles qui se meuvent avec une vitesse surprenante; ce sont les gamètes mûrs.

En comparant au microscope des préparations sèches à des fraîches

du sang d'un oiseau contenant de grands parasites recueillis en même temps, nous observons que les premières ont beaucoup de parasites cylindriques, très peu de sphériques, tandis que dans les secondes nous observons généralement, après quelques instants, beaucoup de parasites sphériques et très peu de cylindriques. Nous n'avons pu que rarement suivre au microscope, dans le sang frais, la métamorphose des grands parasites cylindriques en sphériques, vu que cette métamorphose et la rupture de l'hématie ont lieu chez les parasites mûrs au moment de la transvasation du sang; chez les plus jeunes, très lentement et insensiblement. Dans tous les cas nous ne pouvons pas nous apercevoir de la rupture de l'hématie, vu que celle-ci est tellement transparente, incolore, qu'elle échappe à la vue.

J'ai fait avec beaucoup de soin l'étude au microscope des gamètes et des macrogamètes. J'ai observé qu'exceptionnellement les grains de pigment sur les gamètes se meuvent très vivement; chez le mâle même, non seulement les grains se meuvent avec une grande vivacité, mais encore le parasite lui-même tressaille tout entier au moment de la poussée des flagelles. Les grains de pigment chez le gamète et chez le macrogamète sont disséminés et grands et plus abondants chez le mâle. Dans la règle, les gamètes mâles ou microgamètes sont plus petits en volume que les femelles ou macrogamètes et poussent de 3 à 7 flagelles très mobiles qui, étant très transparentes, sont invisibles à l'œil qui n'est pas exercé à ce genre d'observations; elles ne sont perceptibles qu'à cause du vif déplacement des hématies environnantes. En comparant les grains de pigment du parasite de Danilewsky à ceux de parasites paludiques, nous observons que le pigment des premiers est plus gros, même dans les infections de première invasion, et qu'il ressemble beaucoup au pigment des parasites semilunaires. Ces grains sont noirs ou gris foncé, de forme irrégulière et oblongs. Sur 230 cas, je n'ai observé que huit fois, et cela chez les pigeons, des parasites de Danilewsky avec les grains très menus. Les préparations sèches nous permettent de mieux étudier la métamorphologie de ce parasite.

Méthode de coloration. Nous avons employé pour la coloration des préparations notre méthode Pézopoulos-Cardamatis¹⁾, qui est une modification de celle de Romanowsky. Elle constitue:

1° en une solution de 1% de bleu de méthylène (Höchst) avec 0,30 de carbonate de soude, dans une étuve pendant trois jours à la température de 55°,

2° en une simple solution à 1% de bleu de méthylène (Höchst),

3° en une solution à 1‰ d'éosine BA extra (Höchst).

Pour la coloration nous prenons de la première solution 3 c.c., de la deuxième 1 c.c. et de la troisième 11 c.c. Nous mélangeons chaque liquide séparément dans 10 c.c. d'eau distillée; nous mêlons d'abord les solutions bleues et ensuite celles-ci à la solution d'éosine et nous plongeons les préparations sèches dans ce dernier mélange. Pour réussir la coloration du noyau des parasites de Danilewsky, nous laissons les préparations dans ce mélange exceptionnellement pendant 24 heures. Nous avons également suivi cette méthode pour la coloration des trypanosomes et des microfilaires de la filariose des oiseaux et nous avons ainsi des préparations d'une coloration parfaite.

Préparations sèches. Les jeunes parasites provenant de la

1) Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.

schizogonie, dès qu'ils se détachent du corps maternel sont animés dans le plasma du sang de mouvements très rapides et s'attachent à l'extrémité de l'hématie par de très fins pseudopodes d'une matière protoplasmique; ils sont, pendant cette période, de forme ovale ou annulaire et quelques-uns ressemblent d'une façon surprenante à quelques parasites annulaires très fins du *praecox*; leur dimension est de $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{22}$ de l'hématie (pl. I, fig. 1). Dans cette forme jeune, le noyau se trouve à la partie la plus mince de l'anneau, qui n'est pas d'égale épaisseur sur tous ses points, et il a un centre clair (fig. 2). Les jeunes parasites grandissent vite et ils se transforment à mesure de leur croissance; leur noyau se porte vers le centre (fig. 3). Dans des cas exceptionnels, quelques-uns d'entre eux, comme on le voit à la fig. 2, prennent la forme d'un grand anneau épais qui semble vide au centre. En augmentant de volume les jeunes parasites prennent une forme cylindrique, aux extrémités recourbées chez la plupart. Ces parasites ont le noyau au centre, aux deux extrémités de leur protoplasme se trouvent quelques grains de pigment. Quelques-uns ressemblent beaucoup aux gros parasites semilunaires réniformes du paludisme. Nous en distinguons de deux formes: ceux qui ont un noyau s'étendant dans presque toute la longueur de l'hématie et occupant environ les $\frac{2}{3}$ du parasite et ceux qui ont un petit noyau plutôt rond.

Les parasites à noyaux oblongs sont destinés pour la plupart à la monogonie, c'est-à-dire à la multiplication sans semence ou à la schizogonie. Après la reproduction successive de nouveaux parasites par schizogonie nous en distinguons de grands, de cylindriques, de gros, d'autres aux extrémités très recourbées, d'autres tendant à occuper toute l'hématie et par conséquent ovales; parmi ces derniers, ceux qui ont un protoplasme épais et qui sont vivement colorés, mais avec un petit noyau, sont des macrogamètes (fig. 4, 8, 17), et ceux, qui ont un grand noyau qu'on dirait diffus dans tout le parasite avec un peu de matière protoplasmique aux extrémités, sont des gamètes mâles (fig. 5, 7).

Les gamètes mâles quand elles se transforment complètement en gamètes mûrs ont un grand noyau rouge ou rouge violacé au centre (fig. 27), un protoplasme fin et légèrement teinté en violacé, de gros grains de pigment assez nombreux. Les femelles, c'est-à-dire les macrogamètes ont un petit noyau situé au bord (fig. 28), un épais protoplasme et des grains de pigment plus fins et groupés. Les gamètes mâles ont en vieillissant un très grand noyau, diffus dans tout le parasite, dont le protoplasme ne paraît plus nulle part (fig. 29), vu que presque tout le microgamète prend une teinte violacée plus accentuée au centre et plus pâle aux extrémités et les grains de pigment sont tantôt réunis en deux ou trois groupes formant de grands taches noires, tantôt disséminés. Morphologiquement les gamètes du parasite de Danilewsky ressemblent beaucoup aux gamètes du parasite de la quarte et aux sphériques du *praecox*.

Dans l'infection des oiseaux par le parasite de Danilewsky les hématies n'ont habituellement qu'un seul parasite, mais dans le cas d'infections intenses beaucoup d'hématies comptent deux et trois parasites qui les remplissent toutes (fig. 7 et 8) et tellement joints les uns aux autres par leurs extrémités recourbées qu'il semble qu'il n'y ait qu'un seul parasite à noyau divisé en deux. Chez certains pigeons nous avons observé, mais exceptionnellement, beaucoup d'hématies à trois, quatre et cinq parasites, ce que, d'ailleurs, Laveran a remarqué aussi. Pendant cette infection des oiseaux les hématies à parasites ne changent pas de

forme, si ce n'est très rarement, ni il n'y a déplacement du noyau. C'est là ce qui distingue cette infection de celle par l'*Haemamoeba relictæ*, dans laquelle il y a souvent déplacement du noyau des hématies.

Multiplication endogène des parasites de Danilewsky. Le mode de multiplication endogène de ces parasites a fait l'objet de l'étude de nombreux observateurs. Labbé en a fait une description particulière; malgré toutes nos recherches, nous n'avons pas pu découvrir les formes schizogoniques qu'il décrit, et d'illustres observateurs comme Koch, Laveran et d'autres n'ont pas été plus heureux que nous. Nous devons cependant mentionner que le noyau de quelques gros parasites cylindriques présente une ou deux incisions tantôt superficielles, tantôt profondes, comme le montrent les figures 9 et 11. D'autres fois, quelques parasites cylindriques présentent un amincissement vers le milieu (fig. 12—16), où se trouve leur noyau, au point de paraître segmentés. D'autre part nous avons observé (fig. 20—26) chez certains oiseaux des parasites à grains nombreux, tandis que des tourterelles présentaient des grains semblables en petit nombre, mais gros et noirs ou d'un violacé foncé. Sur quelques-uns de ces derniers parasites (fig. 24, 25 et 26) se trouvent aussi, vers le centre, des grains de pigment très fins.

S'agit-il de schizogonie ou de jeunes parasites?

Nous l'ignorons.

Multiplication des parasites dans les viscères. A ce sujet nous pouvons dire que nous n'avons jamais observé de multiplication de parasites dans la rate à cause de la vive phagocytose qui s'y opère, tandis que nous avons toujours trouvé dans le parenchyme de ce viscère un très grand nombre de grains de pigment contre un très petit de parasites. Il semble que la multiplication des parasites de Danilewsky s'opère surtout dans le foie et dans les reins et très peu dans la moelle des os; car nous avons trouvé dans les reins et dans le foie un grand nombre de parasites et aussi un nombre considérable de jeunes parasites, les uns répandus dans le plasma, la plupart sous la forme annulaire et sans noyau, et d'autres avec de petits noyaux. Dans la moelle épinière nous n'avons pas trouvé de parasites; cependant nous en avons trouvé dans les vaisseaux cérébraux ainsi que dans la moelle de fémur mais en nombre très inférieur au grand nombre de ceux des autres viscères.

Multiplication des parasites par amphigonie. Comme on le sait, dès que les parasites de Danilewsky percent l'hématie ils ne tardent pas à périr et pour que le temps très court qu'ils sont vivants sous le porte-objet nous permette de saisir toutes les phases de leur évolution, nous mélangeons le sang recueilli à une quantité d'eau égale ou même supérieure, jusqu'à dix fois son volume, et nous faisons de ce mélange des préparations sèches à des intervalles de 2 à 3 minutes. De cette manière nous observons qu'il n'est pas absolument exacte de dire que, si nous mêlons du sang d'oiseau contenant des parasites de Danilewsky à dix fois son volume d'eau ou de sérum normal, les parasites développés atteignent très vite à leur maturité. En réalité quelques-uns d'entre eux grandissent et poursuivent leur évolution, les grands parasites se transforment en sphériques, de même que les parasites mûrs se transforment en gamètes; tandis qu'un grand nombre de parasites cylindriques, cela dans des circonstances qui nous sont encore inconnues, presque tous les parasites cylindriques, tant les petits que ceux qui atteignent la dimension de l'axe longitudinal de l'hématie,

et quelquefois même les plus grands d'entre eux, non seulement ne se transforment pas, quel qu'ait été le temps de notre observation au microscope, mais encore ils ne donnent pas de signes de vie, quand, par contre, les gamètes mûrs donnent tous les signes d'une vie intense.

Profitant de la vitalité des gamètes nous pouvons suivre la multiplication par amphigonie du parasite pendant les premières phases de la multiplication exogène soit dans une goutte pendante, méthode conseillée par Koch, mais qui ne nous a pas rendu de services suffisants, soit encore par la méthode suivante que nous recommandons. Après avoir pris une goutte de sang d'oiseau contenant un nombre suffisant de parasites et l'avoir mélangée, à 5 à 10 gouttes d'eau, nous étalons le liquide en épaisseur sur une lame, nous le pressons vers le centre du couvre objet et après l'avoir entouré de vaseline ou de paraffine nous l'examinons au microscope à la température de la chambre. Pour ces observations nous n'avons fait usage que du sang de chouettes, de laniers, de moineaux, de loriots, de chardonnerets et de pigeons, vu que ces oiseaux sont ceux qui nous ont donné le plus de parasites surtout pendant les mois de Juillet, d'Août ainsi que pendant ceux de Septembre et d'Octobre.

Après le travail préparatoire ci-dessus, dès que nous avons placé la préparation fraîche sous l'objectif du microscope, nous remarquons un certain nombre de corpuscules sphériques dont le nombre varie suivant le degré de l'infection; non seulement leurs grains de pigment se meuvent avec vivacité, mais, dans beaucoup de cas, les parasites eux-mêmes, dont quelques-uns portent des flagelles qui, détachées du microgamète, viennent très vite se coller au macrogamète qu'elles enveloppent en entier (fig. 30, pl. I). Quelquefois le nombre des gamètes ainsi que celui des flagelles détachées est grand, de sorte que dans un même champ optique nous pouvons en compter beaucoup qui, vus au microscope, ont des mouvements vifs semblables à ceux des spermatozoaires. Des préparations sèches de sang de hibou nous ont présenté cette image dans les conditions ci-dessus mentionnées; c'est ce que représente notre Planche II.

Beaucoup de gamètes, après avoir poussé des flagelles et celles-ci s'être détachées, sont détruits et leurs grains de pigment se répandent dans le plasma du sang. Les flagelles détachées se meuvent d'ordinaire d'abord ensemble ensuite elles s'éloignent les unes des autres. Elles sortent du noyau du parasite; c'est ce que montrent les fig. 32 et 35 de la planche I. Les gamètes ne sont pas toujours mathématiquement sphériques (pl. I, fig. 33, 34 et 35). Quelquefois les gamètes se rompent et le protoplasme et les grains de pigment se répandent dans le plasma du sang, tandis que le noyau et les flagelles restent vivants et vivement colorés comme on le voit à la fig. 36 de la pl. I. Au moment où, après le détachement des flagelles, l'une d'elles pénètre dans le macrogamète et le féconde (fig. 30, pl. I), le parasite tressaille et ses grains de pigment s'agitent vivement. Le parasite fécondé se transforme peu à peu, et en 20 minutes il prend la forme fusiforme (fig. 31, pl. I). Il se meut ou plutôt glisse très lentement dans le sérum tandis que les grains de pigment deviennent quelquefois invisibles. Nous n'avons pas pu faire d'observations microscopiques au-delà de ce point, c'est-à-dire de la fécondation du parasite. Le sang frais nous permet de suivre cette évolution dans la fécondation du parasite; mais nous pouvons l'étudier aussi et mieux encore dans des préparations sèches; pour cela il faut que les préparations sèches du sang mêlé à l'eau et conservé dans une

chambre humide à la température ambiante de 26° à 32° soient faites toutes les minutes.

Prolongation de la vie des parasites. Nous pouvons conserver les parasites de Danilewsky vivants pendant de nombreuses heures sous le couvre-objet en maintenant les conditions que nous avons décrites plus haut, c'est-à-dire par le mélange du sang avec de l'eau, celle-ci à volume égal ou supérieur, en entourant les bords de la goutte de vaseline ou de paraffine et en conservant la préparation dans une chambre humide. En étudiant au mois d'Août la filariose des oiseaux et en conservant dans une chambre du sang frais de hibou contenant en outre des microfilaries un grand nombre de parasites de Danilewsky à la température ambiante de 26° à 32°, nous avons remarqué que les parasites vivaient jusqu'à 50 heures. Cette limite est la limite suprême, observée jusqu'à ce jour, de la vie des parasites de Danilewsky.

Comment sont détruits les parasites. En observant au microscope des préparations sèches, nous distinguons parmi les grands parasites cylindriques quelques-uns à noyau très petit avec des vides, tandis que d'autres parasites ont le noyau tellement aminci que la chromatine du noyau elle-même est invisible. A la place du noyau disparu il en reste une particule ou des particules séparées et distantes les unes des autres au nombre de deux ou de plusieurs et d'un rouge violacé ou violettes. D'autres fois nous observons à la place des parasites cylindriques de grands parasites sphériques de formes irrégulières avec un protoplasme très ténu et à peine teinté; la dimension de ces parasites est en général double, quelquefois triple de celle des hématies rouges, comme le montrent les fig. 1 et 2. Ces grands parasites de formes irrégulières sont des dégénérés et sont condamnés à mourir. En règle générale le protoplasme est détruit en premier, puis vient la destruction du noyau. Quelquefois après la destruction du parasite il reste

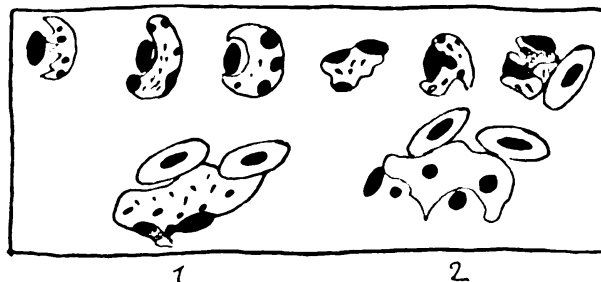


Fig. 1 et 2.

une portion du protoplasme avec des grains de pigment. Les particules restantes du noyau, ainsi que celles du protoplasme, celles qui quelquefois conservent leur vitalité, continuent à être bien colorées et peut-être à servir de point de départ à la formation de nouveaux parasites. Très souvent nous distinguons la destruction des parasites en observant des portions granuleuses de matière protoplasmique, comme de noyau, et nous apercevons des grains de pigment mêlés à celles-ci; ces grains de pigment sont tantôt comme de gros grains noirs et tantôt ils forment un grand groupe noir qui diminue avec le temps. La couleur de ces grains change plus tard et ils prennent une teinte de rouille ou noire grisâtre. Les gamètes sont les derniers des parasites à subir la destruction. Nous suivons bien ces derniers degrés de la destruction des parasites lorsqu'après avoir mêlé le sang et l'eau dans les conditions, que nous avons indiquées plus haut, nous en faisons des préparations sèches toutes les cinq minutes pendant une heure et demie au plus.

Méthode pour la prise du sang. Nous prenons le sang des oiseaux destinés à nos études au microscope de la manière suivante: Un

aide tient dans ces mains l'oiseau étendu sur le dos, il en écarte une aile et si l'oiseau est petit, comme le moineau, nous soufflons sur la partie interne de la seconde articulation de l'aile afin d'écarter les duvets jusqu'à ce que nous apercevions les vaisseaux sanguins. Mais si l'oiseau est grand (pigeon, hibou, ou faucon), nous cherchons ces vaisseaux en écartant le duvet avec les doigts. De cette manière nous distinguons à la partie interne de la seconde articulation et un peu à sa gauche de grands vaisseaux sanguins que nous piquons au moyen d'une aiguille très fine ou d'une épingle; non pas d'une épingle ordinaire mais d'une épingle noire du commerce, à pointe très acérée et à tête sphérique en verre ou en émail. Dès que nous avons fait la piqûre et qu'une goutte de sang a jailli nous y plongeons la tête de l'épingle et en emportons une parcelle que nous déposons sur la lame. Avant la piqûre nous avons soin d'écarter le duvet le plus complètement possible, au besoin nous l'arrachons, car si la goutte venait à toucher le duvet, elle se remplirait de différents microbes et de coccus. Aux pigeons nous arrachons de la queue ou de l'aisselle des ailes un petit duvet naissant, dont le canal contient une goutte de sang. Quand pour examiner l'état des viscères d'un sujet nous voulons en examiner le sang nous tuons l'oiseau au chloroforme de la manière suivante: Nous en introduisons la tête dans le goulot d'un flacon contenant une certaine quantité de chloroforme et quelques minutes après, ou même au bout de quelques secondes, il est mort. Sur les 38 espèces de sujets que nous avons étudiés nous avons remarqué que le pigeon succombe le plus promptement à ce traitement.

Observations cliniques.

Les oiseaux intensivement infectés par le paludisme semblent appesantis, leur plumage est terne, leurs mouvements sont moins vifs, leur maigreur les fait paraître plus petits. Pendant le mois d'Août, où chez nous presque tous les oiseaux sauf les oiseaux de proie, sont replets, les sujets intensivement infectés sont décharnés. Nous l'avons observé à plusieurs reprises et surtout chez les laniers. Les oiseaux sont sujets à la fièvre intermittente et à la fièvre continue. Il semble que la fièvre continue soit celle qui cause le plus de ravage, parce que tous ceux des oiseaux que nous avons examinés et qui sont morts, n'étaient malades que depuis quatre ou cinq jours; ils avaient dans leur sang de circulation un grand nombre de parasites et étaient décharnés.

Observations anatomopathologiques. Tous les observateurs avouent avec nous que dans le cas d'infection par les parasites de Danilewsky, on retrouve dans les viscères des oiseaux des altérations caractéristiques semblables à celles causées par le paludisme chez l'homme. Elles ont leur siège particulièrement dans le sang et dans la rate. Le sang des oiseaux malades est quelquefois aqueux, moins abondant, d'un rouge plutôt pâle et il se coagule difficilement. A l'examen au microscope du sang frais des oiseaux intensivement infectés nous observons que quelques hématies rouges n'ont pas de noyau, tandis que d'autres plus incolores portent un ou deux gros grains de pigment, ce qui signifie que ces hématies étaient naguère occupées par un parasite mort depuis. Mais dans le plasma du sang aussi nous rencontrons quelquefois quelques grains de pigment et cela prouve, même en cas d'absence de parasites, que l'on est en présence d'une infection palustre. Nous observons que presque toutes les hématies occupées par des parasites sont

complètement incolores, vitreuses, semblent avoir perdu leur pigment. Quant aux hématies blanches, nous en avons observé une seule fois chez un moineau intensivement infecté; quelques-unes avaient environ cinq fois la dimension normale avec protoplasme très épais, compact et double noyau indépendant.

Le viscère, qui présente plus que tout autre des altérations visibles à l'œil nu même, est la rate, qui dans le cas d'infection a l'apparence de chocolat; elle est d'un noir grisâtre et plus souvent noire; sa consistance est flasque, friable, et pulpeuse; elle est habituellement gonflée et sa dimension est double jusqu'à quadruple de la normale; la surface en est lisse et la forme celle d'une saucisse. Pour extraire la rate nous devons enlever d'abord l'estomac qui recouvre complètement ce viscère qui se trouve en arrière, en couper avec soin tous les liens et les symphyses. Nous n'avons jamais pu, même avec le bistouri le plus affilé, faire des incisions sur une rate fraîche parce que le parenchyme en était toujours pulpeux comme une bouillie noire. En examinant au microscope le parenchyme pulpeux de la rate, nous observons un très grand nombre de grains de pigment, comme si la préparation avait été saupoudrée d'une poussière très fine, et par places, des amas de ces grains, dont la disposition reproduit la forme sphérique des parasites (fig. 3). Dans la rate, et surtout dans les cas d'infection chroniques, nous retrouvons rarement des parasites malgré toute l'abondance du pigment, parce que la plupart sont détruits par l'action très énergique de la phagocytose. La rate normale des oiseaux a la forme d'un ver menu et cylindrique, celle des chauves-souris est large et ténioïde; elle recouvre l'estomac par devant et est de teinte rouge. Comparée à celle des oiseaux, elle est très grande, tandis que celle des chouettes est très petite en proportion de celle des moineaux.

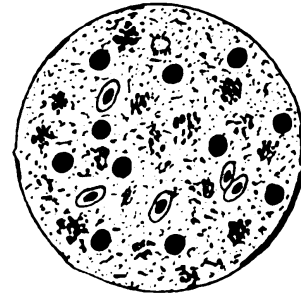


Fig. 3.

Phagocytose. La phagocytose a lieu dans tous les viscères et surtout dans la rate; elle est produite par les grands leucocytes mononucléaires. Dans des préparations du foie nous avons observé beaucoup de ces leucocytes portant en eux de grands parasites, dont le protoplasme avait presque disparu et dont le noyau avait été segmenté en petites parcelles. Malgré la segmentation, ces débris conservent quelquefois leur vitalité parce que, par notre méthode, ils se colorent vivement en rouge violacé. Les phagocytes ont un protoplasme très fin et dans tous ceux où nous trouvons des débris de noyau nous ne remarquons pas de grains de pigment; nous en observons de concentrés formant une ou deux grandes taches noires sur les phagocytes qui ne contiennent pas de trace de parasite.

Travaux d'expérimentation.

Transmission de la maladie. Comme les parasites palustres de l'homme, de même ceux des oiseaux se transmettent par les moustiques; on a fait jusqu'à ce jour de nombreuses expériences de transmission du paludisme des oiseaux par différentes espèces de moustiques comme par l'albopunctatus, le penicillaris, le vexans, l'annulata, la theobaldinella etc., quoique la plupart ait été sans résultat, néanmoins il est incontestable que cette maladie se transmet chez les oiseaux par

les moustiques, par le *Culex pipiens*, le *memorosus*, et le *fatigans*. Nous nous sommes à plusieurs reprises occupé de la question et nos expériences ont eu simultanément les quatre buts suivants:

1° de transmettre la maladie d'oiseau à oiseau par des moustiques infectés,

2° de transmettre la maladie d'un oiseau malade à un oiseau sain par transvasation de sang infecté,

3° de contrôler le degré de pouvoir thérapeutique de la quinine sur les parasites de Danilewsky, et

4° de transmettre le paludisme de l'homme à l'oiseau.

Pour transmettre l'infection par les moustiques nous avons mis à différentes époques de l'été et de l'automne dans une cage spéciale enveloppée d'une toile métallique une assez grande quantité de moustiques des espèces *memorosus* et *pipiens* et nous y avons introduit:

1° une paire de loriots avec une paire de chardonnerets infectés et portant dans leur sang de circulation un grand nombre de parasites avec gamètes,

2° à une autre époque une seule paire de chardonnerets infectés, et

3° à une autre encore un seul oiseau portant un très grand nombre de parasites.

Enfin nous avons enfermé dans la même cage un nombre égal d'oiseaux sains.

Dans ces trois cas les expériences ont réussi, car un oiseau de chaque série a été infecté. Le loriot a été atteint du mal le 26^e jour, les chardonnerets le 28^e et le 30^e jour de leur introduction dans la cage. Le loriot a été malade quatre jours et le chardonneret cinq, puis ils ont succombé. Ces oiseaux présentèrent à l'examen du sang de circulation et des viscères un certain nombre de parasites de Danilewsky.

Pour examiner notre 2^e but, celui de la transmission du paludisme d'un sujet malade à un sujet sain par transvasation de sang infecté, nous avons opéré entre oiseaux de même espèce et oiseaux d'espèces différentes; nous avons pris dans ce but des chouettes, des pigeons, des laniers, des moineaux, des loriots, et des chardonnerets. Nous avons procédé comme suit.

1^{ère} série d'expériences. Elles eurent lieu sur des chouettes. Nous nous sommes servis de la seringue de Pravaz, conservé avant l'opération dans de l'eau chaude; nous avons introduit l'aiguille dans un des grands vaisseaux de la deuxième articulation de l'aile et avons chargé la seringue au $\frac{1}{4}$ de son volume et immédiatement nous avons fait un piqûre, soit dans les muscles du sternum, soit sous-cutanée dans l'aile de l'oiseau sain et 24 heures après nous avons fait chaque jour l'examen du sang au microscope jusqu'au 16^e jour. Nous avons continué nos expériences sur les chouettes, sur les pigeons aussi. Après les pigeons nous avons fait des injections, comme nous l'avons dit plus haut, de lanier à lanier, de loriot à loriot, de moineau à moineau et de chardonneret à chardonneret. Nous avons fait à chaque oiseau trois injections du sang à quatre jours d'intervalle, mais le 16^e jour chacun des examens au microscope a donné un résultat négatif.

2^e série d'expériences. Nous avons fait de semblables injections de sang entre oiseaux de différentes espèces p. ex. entre chouette et pigeon, lanier et moineau, chardonneret et loriot; là encore nous n'avons pas obtenu la transmission de la maladie.

3^e série d'expériences. Celles-ci n'ont eu lieu qu'entre couples

de pigeons. Après avoir stérilisé à l'ébullition l'aiguille de la seringue de Pravaz nous avons désinfecté la deuxième articulation de l'aile du pigeon, nous avons introduit l'aiguille dans un des grands vaisseaux sanguins et pompé du sang jusqu'à la moitié du volume de la seringue qui jusque là avait plongé dans de l'eau chaude. Nous avons versé ce sang dans la concavité d'un verre de montre stérilisé et contenant une égale quantité de sérum normal; nous avons mélangé le tout et nous avons injecté la moitié de ce mélange dans la veine de deux pigeons sains. A l'examen au microscope d'une goutte de ce mélange nous avons observé beaucoup de parasites endoglobulaires et même de ronds ainsi que bon nombre de gamètes libres dont les mouvements étaient très vifs. Nous avons examiné au microscope le sang des pigeons 24, 36 et 48 heures après l'inoculation et nous avons constaté l'absence des parasites. Nous avons répété trois fois l'inoculation de la même manière et nos recherches au microscope 16 jours après la première injection, 12 après la deuxième, 8 après la troisième, et 4 après la quatrième: le résultat était négatif.

4^e série d'expériences. Pour celles-ci nous avons employé à l'injection le sang extrait après l'avoir débarrassé de sa fibrine en le battant dans une capse avec une baguette en verre; d'autres fois nous ajoutons à ce sang le quart de son volume d'eau stérilisée. Quatre fois nous avons fait les injections à deux pigeons avec une demi-seringue de ce sang défibriné plein de parasites de Danilewsky et là encore toutes nos recherches à partir d'un à 16 jours après les injections nous ont donné des résultats négatifs.

Expériences faites au moyen de la quinine et du sang d'un homme impaludé.

En ce qui concerne la propriété thérapeutique ou non de la quinine nous avons agi de différentes manières, soit sur du sang extrait contenant des parasites, soit directement sur des oiseaux auxquels nous avons injecté à différentes doses de la quinine dans les muscles et sous l'épiderme.

Pour ce qui est de la transmission du paludisme de l'homme aux oiseaux, nous avons fait des injections intramusculaires du sang d'homme impaludé à des pigeons, des laniers et des chouettes; nous n'avons pas réussi dans nos travaux pas plus que beaucoup d'autres expérimentateurs avant nous.

5^e série d'expériences. Nous avons pris trois gouttes de sang d'un loriot, qui portait dans son sang de circulation un grand nombre de parasites et nous y avons mêlé une goutte de solution de chlorhydrate de quinine, à 0,50 pour 1,25 d'eau et nous avons examiné au microscope. Le résultat a été négatif car les parasites s'étaient développés physiologiquement. Nous avons répété cette expérience sur du sang de pigeon, de moineau et de chardonneret, mais toujours avec un résultat négatif, vu que les parasites n'étaient nullement incommodés.

6^e série d'expériences. Cette fois-ci nous avons pris aseptiquement et directement des grands vaisseaux sanguins au moyen de la seringue de Pravaz, maintenue jusque là dans de l'eau chaude aseptisée, du sang de pigeons, de pinsons et de chouettes portant dans leur sang de circulation un grand nombre de parasites. Nous avons mélangé ce sang à une égale quantité de solution de bichlorhydrate de quinine dans la proportion de 0,50 à 1,25 d'eau et nous avons examiné au microscope.

Nous avons observé que la plupart des hématies devenaient sphériques, les parasites restaient endoglobulaires sauf que de cylindriques, ils étaient devenus ovales puis sphériques. Les gamètes devenaient extracellulaires, puis quelques-uns des grands parasites devenaient aussi extracellulaires. Avec le temps les hématies occupées par des parasites devenaient incolores, très transparentes et vitreuses sans nullement grandir elles devenaient si fines qu'il était impossible de suivre à l'œil leur rupture ou leur destruction. Vingt minutes après, un bon nombre d'hématies s'étaient rompues et les noyaux commençaient à se contracter. Les parasites continuaient encore à vivre et beaucoup de gamètes conservaient leurs mouvements très vifs. Quant aux petits parasites en dehors de leur transformation en ovales et en sphériques, il n'y avait aucun autre indice de vie, parce que les grains de pigment des parasites de Danilewsky n'ont pas tous des mouvements perceptibles. Nous avons répété ces expériences en employant la solution de quinine au double de la quantité de sang. Pendant le mélange les hématies étaient très vite détruites, leurs noyaux contractés, les parasites restaient intacts et étaient transformés en sphériques; quant aux gamètes ils conservaient visiblement leur vitalité.

7^e série d'expériences. Ici nous avons employé pour les injections de quinine une solution de bichlorhydrate de quinine d'ampoules contenant 0,50 pour 1,25 d'eau ainsi qu'une solution de chlorhydrate de quinine de l'Etat Hellénique d'ampoules contenant 0,40 et 0,20 d'éthylène d'ouréthane. Nous en avons fait des injections à des moineaux, des chardonnerets, des laniers et des loriots, pour les petits oiseaux, et à des pigeons et des chouettes, pour les grands. D'abord nous avons employé la solution de bichlorhydrate de quinine dans la proportion ci-dessus et en injectant 2—3 gouttes dans les muscles du sternum. Une ou deux minutes après les injections les petits oiseaux ne pouvaient pas se tenir debout; ils paraissaient souffrir beaucoup avaient les extrémités froides et cyanosées, avaient des convulsions et mouraient au bout de 3 à 8 minutes.

8^e série d'expériences. Nous avons fait sur les mêmes oiseaux des injections des mêmes solutions de quinine, mais en diluant la solution de quinine des ampoules dans un volume égal d'eau. Les résultats ont été également négatifs et les petits oiseaux succombaient en souffrant.

9^e série d'expériences. Dans celles-ci les petits oiseaux ont supporté la solution de quinine ci-dessus, mais diluée dans cinq fois son volume d'eau. Les injections ont été intramusculaires et sous-cutanées. Nous avons fait ainsi trois injections à 4 jours d'intervalle à raison de 4 gouttes de la dite solution (0,50 contre 1,25 d'eau dont une goutte diluée dans 5 gouttes d'eau). Les examens au microscope ont encore donné des résultats négatifs, car nous n'avons observé aucune influence de la quinine sur les parasites de Danilewsky.

10^e série d'expériences. Celles-ci ont été faites sur de grands oiseaux tels que pigeons et hiboux; nous avons employé une solution de bichlorhydrate de quinine d'une ampoule à la dose de 0,50 pour 1,25 d'eau, ainsi qu'une solution de chlorhydrate de quinine d'une ampoule de l'Etat Hellénique à la dose de 0,40 pour 0,20 d'éthylène d'ouréthane; nous avons pris de ces deux solutions 4 gouttes que nous avons diluée dans 10 gouttes d'eau stérilisée et avons fait à plusieurs reprises des injections intramusculaires dans les muscles du sternum et sous-cutanées

dans l'aile. Nous avons répété ces injections à 4 jours d'intervalle pendant 12 jours sur un couple de pigeons et le résultat a toujours été négatif. Sur une chouette et sur un pigeon nous avons fait en 12 jours 6 injections semblables, à deux jours d'intervalle avec résultat négatif, car le sang de circulation contenait à peu près le même nombre de parasites.

11^e série d'expériences. Dans celles-ci après avoir pris les précautions aseptiques ci-dessus indiquées, nous avons fait dans un couple de pigeons sains, des injections d'abord sous-cutanées et quatre jours après intramusculaires d'une demisinguée de Pravaz de sang humain dilué dans un volume égal de sérum normal et contenant un grand nombre de parasites vivax. Nous avons répété cette opération 4 fois en 16 jours sur des chouettes et sur des laniers; dans ces derniers nous avons injecté $\frac{1}{4}$ de seringée. Les mêmes expériences ont été faites de la manière indiquée ci-dessus sur les mêmes espèces d'oiseaux:

1^o avec du sang humain contenant des parasites vivax,

2^o avec du sang humain contenant des parasites praecox et particulièrement des gamètes semilunaires, et

3^o avec du sang humain contenant des parasites de la quarte.

Les examens au microscope ont eu lieu chaque fois deux fois par 24 heures, mais sans résultat. Après les expériences susmentionnées tous les oiseaux ont été tués pour en examiner les viscères, mais là encore cela a été en vain.

* * *

Comme on le sait, les oiseaux infectés par le *Proteosoma Grassii* ne peuvent pas subir une seconde infection si nous leur injectons du sang contenant de tels parasites; en est-il de même aussi pour nos expériences quant aux parasites de Danilewsky? Cette pensée est exclue vu que dans nos expériences nous avons employé aussi des pigeons nouveau-nés et par conséquent indemnes. Nous tirons des recherches expérimentales ci-dessus les conclusions suivantes:

1^o que les parasites de Danilewsky, sauf le cas de transmission par les moustiques, ne peuvent pas être transmis d'oiseau à oiseau par tout autre moyen, et

2^o que le paludisme de l'homme ne peut pas être transmis à l'oiseau.

En ce qui concerne nos recherches expérimentales sur le pouvoir thérapeutique de la quinine sur les parasites de Danilewsky, nous en arrivons à conclure que la quinine est absolument sans effet sur ces parasites.

Conclusions.

Nous sommes le premier qui ayons examiné les oiseaux de la Grèce au point de vue du paludisme et nous avons observé qu'un grand nombre d'oiseaux sont infectés par l'*Halteridium* de Danilewsky. Parmi nos oiseaux de demeure, sont particulièrement infectés les chouettes, les moineaux, les fauvettes, les loriots et les pigeons. et parmi ceux de passage, les laniers et surtout les tourterelles.

Aucun observateur n'a examiné un aussi grand nombre d'oiseaux (936 sujets) que nous; il ressort de ces observations que nos oiseaux dans les foyers palustres sont infectés dans la proportion de 25,64 %.

Nous prouvons également par nos recherches que, en outre de 53 espèces d'oiseaux connues, il y en a encore d'autres qui sont atteints du parasite de Danilewsky, ce sont: les linottes, les rossignols de muraille, les soulcies, les tourterelles et les sittelles.

Chez nous, les oiseaux sont infectés plus particulièrement l'été que pendant tout autre saison.

Les parasites de Danilewsky sont en règle générale endoglobulaires, ils ont des mouvements très lents qui ne sont pas perceptibles à la vue.

Dans les préparations sèches, les parasites qui ont un petit noyau et un protoplasme épais sont les femelles, ceux qui ont un grand noyau et un protoplasme, qui n'est pas compact, sont les mâles.

Dans les préparations fraîches, les grains de pigment ne se meuvent que dans les gamètes, mais vivement. Les parasites sphériques extracellulaires dont le mouvement est sensible, sont des gamètes mâles.

Nous pouvons suivre au microscope la première phase de l'évolution par amphigonie des parasites accouplés; il suffit que nous mélangions la quantité de sang à de l'eau ou à du sérum normal dans la proportion de 1 à 1 jusqu'à 10.

Nous avons observé que les parasites de Danilewsky peuvent, dans du sang étalé sur une lame, vivre jusqu'à 50 heures si nous entourons les bords du porte-objet de vaseline ou de paraffine et si nous tenons la plaque dans une chambre humide à la température de 26 à 32° degrés centigrades.

La destruction des parasites commence par le protoplasme du noyau dernier restant.

Les gamètes sont les derniers des parasites à se détruire.

Pour recueillir du sang nous piquons un des vaisseaux sanguin que l'on rencontre à l'angle de la deuxième articulation de l'aile; chez les pigeons nous arrachons une des plumes naissantes de la queue ou à la naissance de l'aile; dans le canal de cette plume se trouve, en outre de la lymphe, une petite goutte de sang.

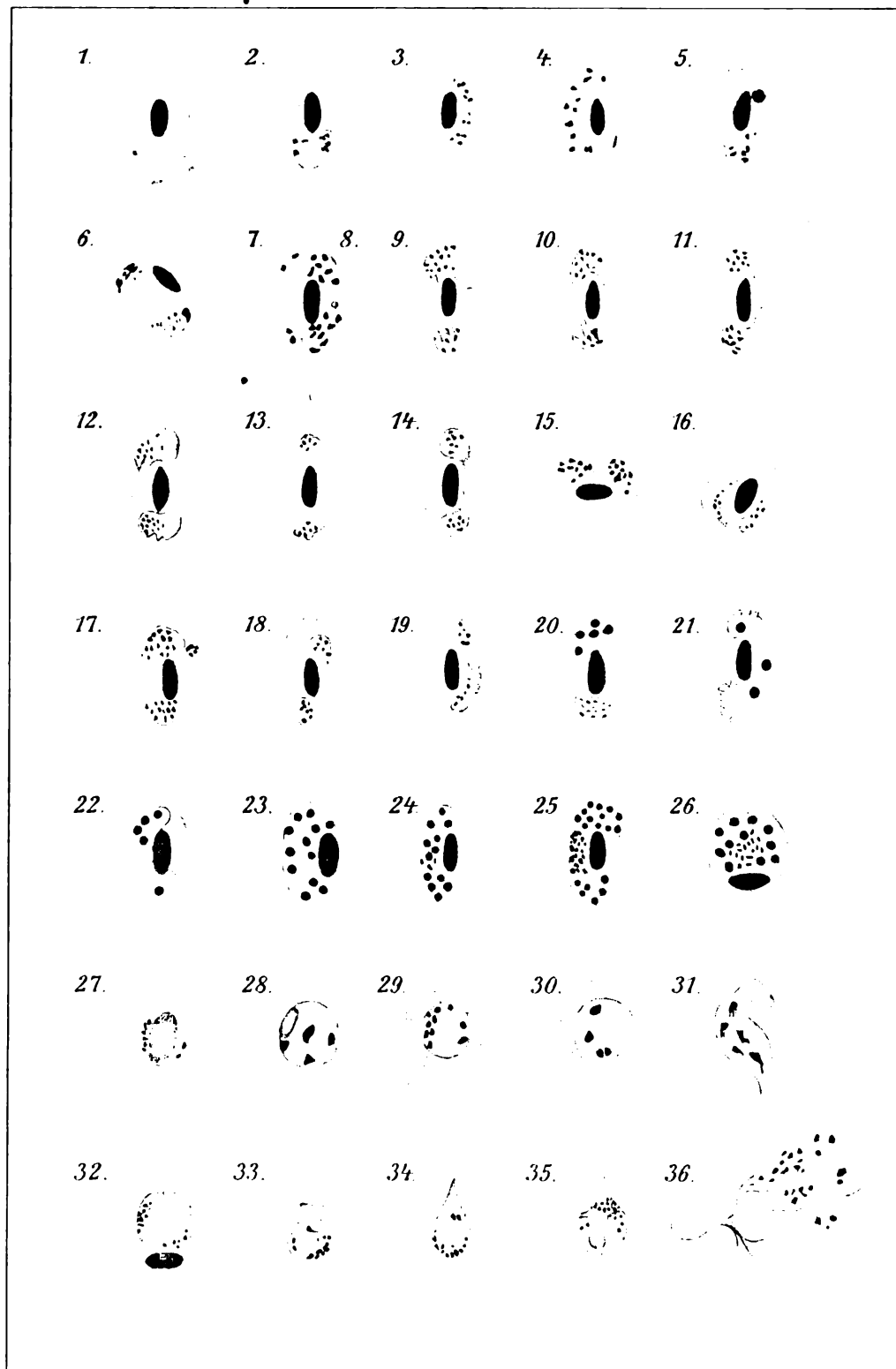
Pour les études histologiques nous tuons l'oiseau au moyen du chloroforme. Nous retrouvons dans les viscères des oiseaux les mêmes altérations anatomopathologiques et dans leur sang les mêmes altérations morphologiques que dans l'homme impaludé.

La transmission de la maladie d'oiseau à oiseau ne s'effectue que par les moustiques; l'oiseau n'est pas infecté par injection de sang infecté.

La quinine n'a absolument aucune action thérapeutique sur l'infection par le parasite de Danilewsky.

Il n'est pas rare d'observer, dans les préparations sèches, de jeunes parasites, soit des mérozoïtes ainsi que de petits annulaires ressemblant aux annulaires des parasites paludéens.

Nous avons observé des parasites de Danilewsky dans beaucoup



К. Мителюх. gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Κ ΜΗΤΡΟΠΟΛΙΣ γεζ.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

d'espèces et dans un grand nombre d'oiseaux et nous y avons constaté les mêmes caractères morphologiques. Dans les pigeons et les tourterelles seulement nous avons remarqué quelques différences dans les détails. Ainsi, par exemple, chez la plupart des pigeons, les grains de pigment sont très menus, tandis que chez les tourterelles ils sont très gros. Dans deux cas où nous avons coloré les préparations non seulement par notre méthode mais encore au moyen de liquide de Giemsa, nous avons observé que le protoplasme restait malgré tout incolore, et les parasites portaient au lieu de noyau, les uns un petit nombre, les autres un grand nombre de gros grains noirs ou violacés foncés avec de très menus grains de pigment très distincts et concentrés dans le centre du parasite (pl. I, fig. 20—26).

Ces différences peuvent-elles faire supposer qu'il ne s'agit pas d'une seule et même espèce de parasite, mais d'autres espèces?

Nous pensons que la question a besoin d'être approfondie.

Bibliographie.

- Labbé, Alphonse, Sporozoa. (Das Tierreich. Eine Zusammenstellung und Kennzeichnung der rezenten Tierformen. Herausgegeben von d. Deutsch. Zool. Gesellsch. Berlin 1899.)
 Koch, R., Ueber die Entwicklung der Malariaparasiten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1899.)
 Doflein, F., Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger nach biologischen Gesichtspunkten dargestellt. München 1901.
 Bertrand, L. et Klyneus, La malaria. 1903.
 Le Dantec, A., Précis de pathologie exotique. 1905.
 Blanchard, R., Les moustiques, histoire naturelle et médicale. 1905.
 Laveran, A. et Lucet, Académie d. Sc. de Paris, 30 Octobre 1905.
 Stephens, J. W. W. et Christophers, Du paludisme et des parasites du sang. 1906.
 Lühe, Max, Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. (Handbuch d. Tropenkrankh. 1906.)
 Laveran, A., Traité du paludisme. 1907.
 Manson, Patric, Maladies des pays chauds. 1908.

Planche I.

Evolution de l'*Halteridium* Danilewsky d'après nos observations.

1 Sporozoïtes. — 2, 3 Jeunes parasites. — 4 Grand parasite femelle. — 5 Parasite mâle occupant presque toute l'hématie. — 6 Parasite qui a rompu l'hématie et dont le noyau est resté sur le côté. — 7, 8 Hématie occupée par deux grands parasites; 7 parasite mâle, 8 parasite femelle. — 9—11 Parasites portant des incisions du noyau et du protoplasme. — 12—16 Parasites amincis vers le milieu comme bipartis. — 17—18 Détachement de bourgeons. — 20—26 Parasites avec gros grains qui dans certaines préparations sont noirs (20, 22, 23) et dans d'autres sont d'un violacé foncé (21, 24, 25, 26). — 25, 26 Parasites portant en outre des gros grains d'autres grains noirs de pigment très menus qui se trouvent au centre. — 27 Gamète mâle. — 28 Gamète femelle. — 29 Gamète mâle avec flagelles. — 30 Macrogamète fécondé par une des 6 flagelles qui se trouvent à sa périphérie. — 31 Forme de macrogamète fécondé. — 32, 35, 36 Figures représentant le détachement des flagelles du noyau. — 33, 34, 35 Formes irrégulières de gamètes. — 36 Gamète mâle dont le protoplasme a été détruit, les grains de pigment ont été répandus dans le plasma du sang, le noyau s'est conservé avec les flagelles qu'il a poussées.

Planche II.

Champ optique plein de gamètes et de macrogamètes avec quantité abondante de flagelles ou gamétocytes, dont quelques-unes fécondent les macrogamètes.

Nachdruck verboten.

Vorkommen und Verbreitung der Trichinen im Regierungsbezirk Posen.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut in Posen
(pathologisch-anatomische Abteilung).]

Von Prof. Dr. Otto Busse, Medizinalrat.

Die Provinz Posen nimmt nach mancher Richtung hin, sowohl in kultureller, als auch in hygienischer Beziehung, eine Sonderstellung ein. Was der in Posen tätige Pathologe alsbald unter anderem geradezu als eine Spezialität der hiesigen Gegend kennen lernt, ist das häufige Vorkommen von verkalkten Trichinen in den Muskeln der untersuchten Leichen. Diese Veränderung, die in den übrigen Teilen Deutschlands heute eine Seltenheit darstellt, bildet im Osten einen ganz gewöhnlichen Sektionsbefund, und man ist immer wieder aufs neue überrascht und erstaunt, in wie ungeheuren Mengen die Parasiten in dem Körper verstreut sein können, ohne dem Träger dauernde Beschwerden zu bereiten. Sie bilden stets einen Nebenfund, die Einwanderung liegt meist Jahrzehnte zurück, und nur ausnahmsweise gelingt es, vom Arzt oder den Angehörigen des Toten hinterher noch genauere anamnestiche Angaben zu erlangen. Denn in der überwiegend großen Mehrzahl der Fälle hatte eben der Träger selbst zu Lebzeiten keine Ahnung von der Anwesenheit der Schmarotzer in seinem Körper. Die Infektion ist zu einer Zeit erfolgt, als man die Trichinen selbst noch nicht kannte, und demgemäß sind denn auch die Krankheitserscheinungen, die in den schwereren Fällen ja zweifellos bestanden haben müssen, für Symptome von Typhus, Rheumatismus oder dergl. mehr gehalten worden.

Ganz ungemein schwankt die Zahl der Parasiten bei den einzelnen Individuen, manchmal sind alle Muskeln so massenhaft davon durchsetzt, daß sie eine dichte weiße Sprenkelung aufweisen, in anderen Fällen findet man nur bei genauester Präparation und größter Aufmerksamkeit ganz vereinzelt Exemplare in einem oder dem anderen Muskel. Bei der gewöhnlichen Art zu sezieren werden sich die letzteren meist der Beobachtung entziehen. Deshalb ist es auch unmöglich, die Häufigkeit ihres Vorkommens beim Menschen auch nur annäherungsweise genau und richtig anzugeben, wenn die Untersuchung nicht ganz speziell auf diese Frage eingerichtet wird.

Lubarsch teilt mit, daß er in den ersten 21 Monaten seiner Posener Tätigkeit bei 792 Leichen 13 (d. i. in 1,64 Proz.) mit Trichinen gefunden hätte. In unseren Aufzeichnungen sind die Trichinen bei der gewöhnlichen Art zu sezieren in etwas geringerem Verhältnis bemerkt worden. Wenn aber die Untersuchung auf eine wirklich genaue und exakte Beantwortung der Frage nach der Häufigkeit des Vorkommens von Muskeltrichinen angelegt wird, so wird der Prozentsatz ganz wesentlich höher. Zu einer solchen Untersuchung gehört allerdings, daß größere Muskelgruppen sauber präpariert und genau gemustert werden, insonderheit die kleinen Muskeln des Halses und Kehlkopfes. In diesen findet man des öfteren ganz vereinzelt Trichinen, während die übrigen Muskeln, zumal die grobbündeligen, vollkommen frei sind.

Bei dieser Art zu untersuchen habe ich in den 9 Monaten, Oktober

1908 bis Ende Juni 1909, bei 379 Leichen nicht weniger als 26mal, d. h. also bei 6,9 Proz. aller Leichen, Trichinen nachweisen können. Von diesen 26 Trichinenträgern waren 16 über 60 Jahre und nur 8 unter 60 Jahre, doch niemals weniger als 40 Jahre alt. Nun habe ich in den fraglichen 9 Monaten im ganzen 96 Personen seziert, die über 60 Jahre alt waren, so daß also von 96 Leichen nicht weniger als 18 die Parasiten beherbergten, oder mit anderen Worten: Von den orts-eingesessenen Posenern über 60 Jahre ist etwa jeder **fünfte** mit Trichinen behaftet. Dies Verhältnis stellt sich für den männlichen Teil der Bevölkerung noch ungünstiger, denn von den 96 Leichen waren 39 männlichen, 57 weiblichen Geschlechts, von den 18 Trichinenträgern aber je 9 Männer und Frauen.

Übersichtlich zusammengestellt nehmen sich die Zahlen folgendermaßen aus:

Oktober 1908 bis Juni 1909 wurden seziert	379 Leichen	
davon waren trichinös	26	" = 6,9 Proz.
von den 379 Leichen waren älter als 60 Jahre	96	"
nämlich	39 Männer und 57 Frauen	"
davon trichinös	9	" = 23,1 Proz.
	9	" = 15,8 Proz.

Im ganzen also von den 96 Leichen 18 trichinös = 18,8 Proz.

Diese Zahlen sind natürlich zu klein, die Beobachtungszeit zu kurz, als daß sie durch weiter fortgesetzte Beobachtung nicht noch etwas abgeändert werden könnten. Indessen zeigen sie doch auf das deutlichste, wie außerordentlich stark der ältere Teil der ortseingesessenen Posener Bevölkerung mit Trichinen behaftet ist, aber auch nur der ältere, denn ich habe die Parasiten bei keinem Menschen gefunden, der unter 40 Jahre alt gewesen wäre.

Bei Personen zwischen 50 und 60 Jahren wurden	6mal
"	"
"	"
" 40	" 50
"	"
"	"
nur	2 "

Trichinen angetroffen.

Hieraus darf wohl mit Recht der Schluß gezogen werden, daß innerhalb der letzten 40 Jahre Infektionen nur noch äußerst selten vorgekommen sind, und daß die Einwanderung der Trichinen auch bei den Greisen und Greisinnen mindestens 40 Jahre zurückliegt.

Dementsprechend waren die Würmer in der Mehrzahl der Fälle abgestorben und ebenso wie die Kapseln mit Kalk inkrustiert. Indessen habe ich doch auch einigemal durch die mikroskopische Untersuchung und Fütterungsversuche feststellen können, daß die Parasiten noch lebten und vermehrungsfähig waren.

Danach müssen wir annehmen, daß sich die Parasiten unter geeigneten Bedingungen länger als 40 Jahre im abgekapselten Zustande lebensfähig erhalten können.

Die auffällige Bevorzugung der Posener Bevölkerung muß naturgemäß auf eine örtliche Ursache zurückgehen, und diese findet sich in einer ungemein starken Durchseuchung der Posener Haustiere, insonderheit der Schweine.

In der Tabelle I sind auf Grund der Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes und des Kgl. Preussischen Statistischen Landesamtes die Zahlen zusammengestellt, die die ungemein starke Verbreitung der Trichinen in der Provinz Posen und ganz besonders in dem Reg.-Bez. Posen dartun.

In dieser Tabelle sind in der ersten Spalte jedes Faches die Zahlen der in dem links bezeichneten Jahre überhaupt geschlachteten Schweine

Tabelle I.

Im Jahre	I. Königreich Preußen			II. Reg.-Bez. Posen			III. Reg.-Bez. Bromberg			IV. Berlin			V. Reg.-Bez. Minden			VI. Reg.-Bez. Wiesbaden		
	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	Mit- hin /ooo	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	o /ooo	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	o /ooo	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	o /ooo	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	o /ooo	Zahl der geschlachteten Schweine	Trichinose Schweine	o /ooo
1886	4 834 808	2114	4,4	141 980	577	40,6	45 217	137	30,3	302 334	182	6,0	142 703	4	—	56 078	2	—
1887	5 486 417	2776	5,1	161 446	781	48,4	49 971	178	34,0	455 330	272	6,0	157 034	9	—	104 975	5	—
1888	6 051 249	3111	5,1	168 488	835	49,6	90 615	301	30,2	577 860	373	6,5	172 751	9	—	119 013	8	—
1889	5 500 679	3026	5,5	145 533	701	48,2	85 195	263	30,9	570 926	351	6,1	150 098	10	—	123 615	8	—
1890	5 590 510	1756	3,1	146 853	556	37,9	83 539	145	17,4	543 488	142	2,6	164 585	11	—	120 895	—	—
1891	6 550 182	2187	3,3	165 047	677	41,0	114 718	190	16,6	626 605	265	4,2	181 381	9	—	130 699	6	—
1892	6 234 559	2085	3,3	152 498	583	38,2	94 839	148	15,6	639 200	221	3,5	148 187	2	—	186 615	1	—
1893	6 251 776	1422	2,3	155 130	413	26,0	96 275	110	11,4	648 426	134	2,1	165 321	8	—	168 443	9	—
1894	6 895 222	1393	2,0	184 272	484	26,3	112 127	121	10,8	691 162	167	2,3	171 685	2	—	177 270	4	—
1895	7 752 171	1531	2,1	214 265	535	25,0	133 715	118	8,9	732 620	167	2,0	135 257	4	—	211 805	4	—
1896	8 759 496	1877	2,1	243 814	633	27,2	148 417	166	11,2	815 857	170	2,0	209 088	5	—	239 115	1	—
1897	8 320 405	1558	1,9	229 405	498	21,7	138 590	120	8,7	819 518	196	2,4	190 333	5	—	231 551	1	—
1898	8 246 786	1019	1,2	222 703	347	15,6	139 485	56	4,0	771 962	83	1,1	206 062	3	—	235 512	4	—
1899	9 230 353	1021	1,1	270 779	444	16,4	157 793	74	4,7	856 970	78	0,9	221 757	2	—	260 506	4	—
1900	9 896 969	1415	1,4	302 401	621	20,5	176 707	122	6,9	981 821	168	1,7	235 230	1	—	277 295	2	—
1901	9 438 378	1153	1,2	274 103	448	16,3	150 492	81	5,6	961 941	87	0,9	216 534	2	—	293 209	8	—
1902	8 957 210	735	0,8	269 590	301	11,2	144 321	62	4,3	909 977	51	0,6	224 873	1	—	270 030	3	—
1903	10 442 645	793	0,8	312 813	291	9,3	177 173	77	4,3	1 073 363	89	0,8	288 336	1	—	278 662	7	—
1904	6 011 006	609	1,0	188 293	260	13,8	88 320	30	3,4	500 214	69	1,4	159 148	—	—	155 033	—	—
2. Hälfte	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1905	10 346 429	535	0,5	271 493	250	9,2	163 073	44	2,7	964 549	89	0,9	283 982	3	—	272 326	—	—
1906	10 528 187	533	0,5	290 878	178	6,1	165 904	31	1,8	958 810	42	0,4	293 571	3	—	255 763	1	—
1907	12 855 459	650	0,5	372 833	220	5,9	214 201	38	1,8	1 145 808	49	0,4	341 051	1	—	304 535	—	—
1908	12 698 287	859	0,7	369 218	264	7,2	210 682	49	2,3	1 140 279	93	0,8	330 297	—	—	314 693	—	—

aufgeführt, in der zweiten die Zahlen der darunter trichinös befundenen, und in der dritten ist aus diesen beiden Zahlen berechnet, wie oft unter 10000 Schweinen trichinöse angetroffen worden sind. Diese letzteren Angaben ermöglichen also einen direkten Vergleich der verschiedenen Bezirke.

In dem I. Fache sind die Zahlen für die ganze Monarchie Preußen enthalten, in dem II. die für den Reg.-Bez. Posen,

III.	"	"	"	"	Bromberg,
IV.	"	"	"	"	Berlin,
V.	"	"	"	den Reg.-Bez.	Minden,
VI.	"	"	"	"	Wiesbaden.

Bei Minden und Wiesbaden ist angesichts des seltenen Vorkommens von trichinösen Schweinen die Berechnung auf 10000 unterblieben, die Werte würden nur zum kleineren Teil die Größe $\frac{1}{2}$ erreichen.

Aus dieser Tabelle ist nun zum ersten zu ersehen, daß die Häufigkeit der Trichinosis unter den Schweinen ganz allgemein stark heruntergegangen ist sowohl in der gesamten Monarchie als auch in den einzelnen Bezirken, insonderheit auch in der Provinz Posen, während die Schlachtungen entsprechend der Bevölkerungszunahme erheblich gestiegen sind. Das Verhältnis für Preußen ist, wenn man nicht gerade das erste und letzte Jahr der Tabelle vergleicht, die Ausnahmewerte enthalten, etwa auf den zehnten Teil des Anfangswertes heruntergegangen, im Reg.-Bez. Posen etwa auf den achten Teil, in Bromberg etwa auf den fünfzehnten Teil, in Berlin etwa auf den vierzehnten Teil. Kurz die Verhältnisse haben sich überall ganz außerordentlich gebessert.

Aus dem Vergleiche der Zahlen im I. Fache mit denen des II. und III. geht deutlich hervor, wie enorm die Häufigkeit der Trichinose unserer Provinz die in der ganzen anderen Monarchie überwiegt. Die Verseuchung im Reg.-Bez. Posen ist meist 10mal so stark als im gesamten Preußen, ja ist in der letzten Zeit noch etwas ungünstiger, d. h. also: Unter 10000 Schweinen finden sich in Posen (abgesehen von den Jahren 1886—1889) 10mal, ja vielfach 14mal soviel trichinöse als in dem Königreich Preußen.

Der Reg.-Bez. Posen allein stellt mit Ausnahme des Jahres 1889 stets mehr als ein Viertel aller in der ganzen Monarchie gefundenen trichinösen Schweine, ja seit dem Jahre 1894 entfällt sogar der dritte Teil aller trichinösen Schweine auf den heimischen Bezirk. (Ausnahmen machen nur die Jahre 1897 und 1908.)

Rechnet man nun aber die Zahlen von den beiden Reg.-Bez. Posen und Bromberg zusammen, so kommen wir zu dem überraschenden Resultate, daß in den Jahren 1899, 1900 und 1905 in der Provinz Posen mehr trichinöse Schweine gefunden wurden, als in allen übrigen Teilen des Königreiches zusammengekommen.

Da nun die Provinz Posen auch einen großen Teil der Schweine nach Berlin liefert und da demgemäß auch der dritte Teil oder gar die Hälfte der in Berlin als trichinös erkannten Schweine aus Posen stammt, so ergibt sich, daß der Anteil der Provinz an der Gesamtzahl der trichinösen Schweine der Monarchie noch erheblich größer zu bemessen ist, als dies die Zahlen der Spalte 2 und 3 angeben.

Zum Vergleich habe ich noch die entsprechenden Zahlen zweier westlicher Regierungsbezirke aufgenommen, die ungefähr die gleiche Zahl von Schlachtungen aufweisen wie der Reg.-Bez. Posen. Aus der Zusammenstellung tritt die enorme Verseuchung des Ostens gegenüber

Tabelle II.

Im Jahre	Reg.-Bez. Königsberg			Reg.-Bez. Gumbinnen			Reg.-Bez. Marienwerder			Reg.-Bez. Posen		
	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰
1886	106 410	204	19,2	45 540	47	10,3	70 283	84	11,9	141 980	577	40,6
1887	121 144	202	16,7	55 991	87	15,5	80 260	137	17,0	161 446	781	48,4
1888	135 075	176	13,0	63 471	73	11,5	80 152	148	18,5	168 488	835	49,6
1889	104 123	105	10,1	48 031	60	12,5	66 891	99	14,8	145 533	701	48,2
1890	92 572	78	8,4	49 240	28	5,7	73 455	107	14,6	146 853	556	37,9
1891	119 843	104	8,7	65 913	64	9,7	98 880	129	13,0	165 047	677	41,0
1892	103 268	92	8,9	57 515	66	11,5	89 365	103	11,5	152 498	583	38,2
1893	112 280	62	5,5	60 989	32	5,2	97 956	90	9,2	155 130	413	26,0
1894	162 496	90	5,5	68 379	29	4,2	99 625	66	6,6	184 272	484	26,3
1895	123 718	67	5,4	81 807	27	3,3	116 174	78	6,7	214 266	535	25,0
1896	215 580	137	6,4	97 286	44	4,7	114 368	61	5,3	243 844	663	27,1
1897	199 363	85	4,3	74 985	31	4,1	131 772	96	7,3	229 405	498	21,7
1898	198 051	90	4,5	81 544	32	3,9	107 885	39	3,6	222 703	347	15,6
1899	211 902	79	3,7	91 209	30	3,3	124 374	39	3,1	270 779	444	16,4
1900	226 034	64	2,9	96 662	35	3,6	141 461	32	2,3	302 401	621	20,5
1901	208 897	52	2,5	89 470	17	1,9	123 290	19	1,5	274 103	448	16,3
1902	195 519	40	2,0	86 780	16	1,9	130 524	41	3,1	269 590	301	11,2
1903	250 945	51	2,0	117 395	19	1,6	156 671	36	2,3	312 813	291	9,3
1904	133 883	21	1,6	58 337	27	4,4	91 276	22	2,4	188 293	260	13,8
2. Hälfte												
1905	208 435	32	1,5	93 254	24	2,6	167 303	39	2,3	271 493	250	9,2
1906	190 570	25	1,3	64 494	7	1,1	181 349	19	1,0	290 878	178	6,1
1907	247 292	29	1,2	102 929	24	2,3	228 573	39	1,7	372 833	220	5,9
1908	219 222	22	1,0	93 213	28	3,0	239 613	29	1,2	369 218	264	7,2

Im Jahre	Reg.-Bez. Bromberg			Reg.-Bez. Breslau			Reg.-Bez. Oppeln		
	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰	Zahl der geschlach- teten Schweine	Trichi- nöse Schweine	‰
1886	45 217	137	30,3	388 712	126	3,2	290 500	36	1,2
1887	49 971	178	34,0	407 907	135	3,3	296 647	26	0,9
1888	99 615	301	30,2	425 395	185	4,3	346 027	34	1,0
1889	85 195	263	30,9	390 741	350	8,9	309 946	19	0,6
1890	83 539	145	17,4	362 498	71	1,9	280 879	36	1,2
1891	114 718	190	16,6	403 655	103	2,5	383 040	27	0,7
1892	94 839	148	15,6	379 966	148	3,9	338 495	39	1,2
1893	96 275	110	11,4	386 005	94	2,4	363 009	33	0,9
1894	112 127	121	10,8	404 673	90	2,2	389 498	29	0,7
1895	133 715	118	8,9	444 263	72	1,6	433 834	47	1,1
1896	148 744	166	11,2	481 527	105	2,2	470 837	75	1,6
1897	138 590	120	8,7	476 779	84	1,8	412 781	39	1,0
1898	137 485	56	4,0	470 224	47	1,0	393 899	56	1,3
1899	157 793	74	4,7	501 123	63	1,3	471 237	43	0,9
1900	170 707	122	6,9	513 708	66	1,3	504 602	81	1,6
1901	150 492	84	5,6	506 794	74	1,3	443 031	50	1,1
1902	144 321	52	4,3	511 548	10	0,2	452 439	57	1,2
1903	177 173	77	4,3	527 924	19	0,4	542 493	62	1,1
1904	88 320	30	3,4	304 810	27	0,9	297 684	63	2,1
2. Hälfte									
1905	163 073	44	2,7	492 545	62	1,3	472 455	59	1,3
1906	168 904	31	1,8	531 959	29	0,5	516 743	70	1,4
1907	214 291	38	1,8	598 717	24	0,4	641 450	54	0,8
1908	210 682	49	2,3	601 918	37	0,6	648 004	116	1,8

dem Westen besonders eklatant hervor, zumal wenn man erwägt, daß die gewählten Regierungsbezirke keinesfalls besonders günstige Verhältnisse zeigen, sondern, wie gesagt, nur gewählt wurden, weil sie ungefähr gleichviele Schlachtungen aufwiesen wie der Reg.-Bez. Posen.

Unwillkürlich fragt sich wohl jeder angesichts dieses enormen Ueberwiegens der Verseuchung der Provinz gegenüber den anderen Distrikten unseres Vaterlandes, worin der Grund hierfür zu suchen sei. Ohne weiteres wird die Antwort wohl allgemein dahin gegeben werden, daß hier die Nachbarschaft von Rußland mit seinen unhygienischen Zuständen als Ursache anzusehen ist. Wieweit dies wirklich zutrifft, zeigt uns die Tabelle II, die die gleichen Zahlen wie Tabelle I für die an Rußland angrenzenden preußischen Regierungsbezirke enthält.

Aus dieser Tabelle geht zunächst hervor, daß in allen östlichen Bezirken der Prozentsatz der trichinösen Schweine im Vergleich mit dem des Westens (vergl. Fach V und VI auf Tabelle I) sehr hoch ist. Weiterhin zeigt sich aber, daß die Beteiligung der verschiedenen Grenzgebiete ganz außerordentlich weit voneinander abweicht. Dies beweise ja schon das Zahlenverhältnis der Regierungsbezirke Posen und Bromberg. Letzterer ist sehr viel weniger verseucht als Posen, der durch alle die 23 Jahre hindurch an der Spitze marschiert und alle anderen Bezirke weit, weit hinter sich läßt. Ferner ist zu erkennen, daß die schlesischen Grenzbezirke weit weniger ergriffen sind als diejenigen von Ost- und Westpreußen. Aus diesem sehr verschiedenen Verhalten geht schon mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit hervor, daß der Grenzverkehr mit Rußland und die Einschleppung von dort nicht die alleinige Ursache für die starke Verbreitung der Trichinen in Posen sein kann. Es muß notwendigerweise noch ein anderer Grund hinzukommen, der das gehäufte Auftreten der Parasiten in ganz bestimmten Gegenden bedingt. Dies tritt noch viel deutlicher hervor, wenn man untersucht, wie sich die trichinösen Tiere über die einzelnen Kreise der Regierungsbezirke verteilen.

In der Tabelle III sind die betreffenden Zahlen für die Kreise des Regierungsbezirks Posen zusammengestellt. Zur Vereinfachung habe ich darauf verzichtet, die Zahlen der geschlachteten und trichinös befundenen Schweine als solche anzugeben, ich habe vielmehr gleich berechnet, wie viel trichinöse Schweine auf 10000 geschlachtete entfallen, und nun auch nicht für jedes Jahr gesondert, da die Zahlen für die einzelnen Kreise und Jahre zum Teil sehr niedrig sind, sondern für 3 oder 4 Jahre zusammengenommen, um so nach Möglichkeit Zufallswerte auszuschalten.

Bei der Betrachtung dieser Tabelle ist zu erkennen, daß niemals in den 21 Jahren die Trichinen auch nur annähernd gleichmäßig über die verschiedenen Teile der Provinz verteilt gewesen sind, sondern daß zu allen Zeiten einzelne Kreise, wie Fraustadt, Meseritz, Schwerin a./W., auffallend wenig erkrankte Schweine aufwiesen, ja teilweise mehrere Jahre hindurch ganz frei davon waren, während andere geradezu erschreckend stark befallen waren. Diese ungleiche Dichte besteht noch bis in die neueste Zeit hinein, es hat aber im Laufe der Jahre eine auffallende Verschiebung der Häufigkeitszentren stattgefunden.

In den ersten 10 Jahren war Pleschen der Kreis, der am stärksten verseucht war, ihm folgen die Kreise Koschmin, Wreschen, Jarotschin. In Pleschen ist die Häufigkeit sehr stark heruntergegangen, von 135,3 auf 11,4 pro 10000, auch Wreschen hat sich leidlich gebessert, weniger dagegen Koschmin und Jarotschin, die fast durch alle Jahre bis in die

Tabelle III.
Von 10 000 geschlachteten Schweinen wurden trichinös befunden:

Lfd- No.	im Kreise	1888 bis 1891	1892 bis 1894	1895 bis 1897	1898 bis 1901	1902 bis 1904	1905 bis 1908
1	Adelnau	45,9	76,1	30,0	16,7	4,1	2,2
2	Birnbaum	6,4	6,1	3,5	1,0	0,0	0,3
3	Bomst (Wollstein)	6,3	4,8	2,1	4,8	0,2	0,0
4	Fraustadt	2,5	1,7	2,1	0,3	0,0	0,0
5	Gostyn	77,5	56,6	23,4	16,6	8,1	7,8
6	Grätz	70,5	40,2	42,5	24,5	21,0	11,0
7	Jarotschin	112,5	76,5	60,9	30,4	22,0	16,4
8	Kempen	1,5	10,0	4,0	3,0	6,9	1,0
9	Koschmin	132,8	61,0	75,1	43,0	23,7	14,6
10	Kosten	50,6	39,2	68,9	58,1	39,6	26,0
11	Krotoschin	53,7	28,7	30,1	42,3	10,7	9,5
12	Lissa	5,9	6,2	4,1	2,2	3,5	3,0
13	Meseritz	4,6	2,8	1,2	0,9	1,5	1,0
14	Neutomischel	42,8	21,3	21,4	8,3	4,4	1,4
15	Obornik	20,8	13,9	10,0	6,4	0,3	0,6
16	Ostrowo	40,9	36,1	39,1	22,3	14,7	5,7
17	Pleschen	135,3	118,9	82,8	23,3	11,2	11,4
18	Posen-Stadt	49,4	26,9	23,6	20,3	18,8	9,8
19	„ Ost	106,8	60,9	44,4	32,7	12,7	6,3
20	„ West	83,5	86,4	40,7	11,4	4,0	4,9
21	Rawitsch	9,6	6,4	2,7	1,5	0,3	0,6
22	Samter	57,0	27,8	20,4	18,6	6,9	1,4
23	Schildberg	50,0	35,3	18,8	7,0	9,4	4,3
24	Schmiegel	7,7	2,8	5,1	1,4	1,2	2,5
25	Schrimm	86,4	100,5	63,9	40,6	26,6	9,9
26	Schroda	96,3	57,1	29,6	27,1	24,0	19,1
27	Schwerin a./W.	3,0	0,6	3,7	0,8	1,0	0,0
28	Wreschen	127,1	77,3	36,5	25,1	15,9	13,5

neueste Zeit die 2.—4. Stelle einnehmen. Im Gegensatz zu diesen Kreisen haben sich die Verhältnisse im Kreise Kosten merklich verschlechtert, so zwar, daß durch 10 Jahre hindurch der Prozentsatz der trichinösen Schweine sich zum Teil sehr beträchtlich gegen die Vorjahre erhöhte und seit dem Jahre 1898 alle übrigen Kreise recht erheblich übersteigt, so daß also seit dieser Zeit Kosten die stärkste Verseuchung aufzuweisen hat. Weiter ist in den letzten 14 Jahren der Rückgang im Kreise Schroda nur sehr gering, 29,6, 27,1, 24,0, 19,1 pro 10 000, so daß er sich schließlich, da die Besserung in allen anderen Kreisen sehr viel schneller fortgeschritten ist, zuletzt an der 2. Stelle befindet. Vorübergehend erscheint auch der Kreis Schrimm sehr stark belastet, in den letzten Jahren allerdings weniger stark, so marschiert er am Schluß an der 8., in den Jahren 1902—04 jedoch noch an der 2. Stelle.

Wenn wir nun die Karte zu Hilfe nehmen, so finden wir, daß Wreschen, Jarotschin, Pleschen, Ostrowo, Schildberg und Kempen Grenzkreise sind. Von diesen gehört der südlichst gelegene Kreis Kempen andauernd zu den wenigst verseuchten, die Kreise Schildberg und Ostrowo halten sich etwa in der Mitte, während die drei nördlich gelegenen andauernd stark verseucht sind und in den ersten Jahren sogar die Führung haben. Später jedoch, wo vielleicht eine schärfere Ueberwachung des Grenzverkehrs stattgefunden hat, ist der Gesundheitszustand stark in die Höhe gegangen, derartig, daß Pleschen von 135,3 pro 10 000 trichinösen Schweinen im Jahre 1888 auf 11,4 pro 10 000 heute heruntergegangen ist.

Diejenigen Kreise aber, die in neuerer Zeit die verhältnismäßig größten Zahlen von trichinösen Schweinen aufweisen, Kosten, Koschmin, Schrimm und Schroda, haben gar keine direkte Berührung mit Rußland, der stärkst verseuchte Kreis Kosten liegt sogar weit von der Grenze entfernt, ziemlich im Zentrum des Regierungsbezirks. Deshalb kann auch die Nachbarschaft von Rußland, die für so manche üblen kulturellen oder hygienischen Mißstände als Erklärung, und zwar mit Recht, herangezogen wird, für die starke Verbreitung der Trichinen in der Provinz nur mit großer Vorsicht als Grund angeführt werden. Der Umstand, daß durch lange Jahre hindurch zentral gelegene, nicht an Rußland grenzende Distrikte am allerstärksten verseucht sind, spricht vielmehr dafür, daß hier örtliche Gründe wirksam sein müssen. Wahrscheinlich sind hier nicht nur die Schweine, sondern auch andere Haustiere, wie Ratten, Mäuse etc., in besonders hohem Grade verseucht, vielleicht beherbergen auch die Stallungen und andere Gegenstände, mit denen das Vieh in Berührung kommt, in ungewöhnlich großer Menge die Parasiten. Kurz, die Infektionsmöglichkeit muß in diesen Distrikten nach jeder Richtung hin viel stärker sein als in anderen Bezirken und so erklärt es sich denn, daß die neu entstehenden Generationen immer wieder in so großen Mengen erkranken.

Wir haben hier eine Erscheinung, die wir in ganz ähnlicher Weise auch bei anderen Parasiten antreffen. Ich erinnere nur an das häufige Vorkommen der Echinokokken in Mecklenburg und Pommern, oder an die hochgradige Verseuchung des Schlachtviehs mit Finnen im Regierungsbezirk Oppeln. In allen diesen Fällen müssen wir annehmen, daß das an bestimmte Distrikte gebundene gehäufte Vorkommen einer Parasitenart auf einer gehäuften örtlichen Infektionsmöglichkeit beruht, indem eben Tiere und Gegenstände, mit denen Mensch und Vieh zusammenkommen, mit den Parasiten behaftet sind.

Es ist auch nicht unmöglich, daß vielleicht eine unzweckmäßige Beseitigung der trichinösen Schweine in früheren Jahren (z. B. einfaches oberflächliches Vergraben) dazu beigetragen hat, daß Ungeziefer, Nager und Raubzeug erst recht Gelegenheit fand, sich zu infizieren und die Schädlinge dauernd weiter zu verbreiten.

Der strikten Durchführung der Fleischschau und den zweckmäßigen Bestimmungen darüber, wie mit dem kranken Fleisch zu verfahren ist, verdanken wir nicht nur, daß die Krankheit bei den Schweinen, wie aus Tabelle I zu ersehen, in den letzten 20 Jahren auf den 10. Teil ihres früheren Umfanges beschränkt ist, und somit auch die jährlichen Verluste des Nationalvermögens erheblich herabgemindert worden sind, sondern wir verdanken es auch ganz besonders diesen wirkungsvollen gesetzlichen Bestimmungen, daß die Trichinose bei den Menschen heute nur ganz selten einmal vereinzelt oder in endemischen Herden auftritt, wenn irgendwo die gesetzlichen Bestimmungen in gröblicher Weise mißachtet oder übertreten werden.

Bei dieser Gelegenheit dürfte es gewiß von Interesse sein, festzustellen, seit wann und in welcher Weise gegen die Trichinose vorgegangen worden ist. Es ist bekannt, daß die Entdeckung der Trichinen und ihrer Entwicklung durch Zenker, Virchow und Leuckart in den Jahren 1860 und 1861 wie kaum eine andere Entdeckung auf medizinischem Gebiete das Interesse der allerbreitesten Schichten der Bevölkerung erregte, daß die neu gefundenen Tatsachen wirklich bald das Allgemeingut der gebildeten Welt wurden und ihre Entdecker berühmt und populär machten. Als

dann so die Aufmerksamkeit der Aerzte und Laien auf die Trichinen und die durch sie hervorgerufenen Gesundheitsschädigungen gelenkt war und im Anfang der 60er Jahre eine ganze Anzahl kleinerer und größerer Endemieen von Trichinosis bei den Menschen bekannt wurden, sah sich die Regierung im Jahre 1866 und später im Jahre 1868 noch einmal veranlaßt, eine Belehrung über die Vermeidung der Gefahren der Trichinenkrankheit der Schweine amtlicherseits zu öffentlicher Kenntniss zu bringen. Aber erst im Jahre 1875 wurde auf Grund eines Ministerialerlasses angeordnet, das Schweinefleisch, das zum Verkauf bestimmt war, auf Trichinen mikroskopisch zu untersuchen. Diese Bestimmung besteht im Regierungsbezirk Posen durch eine Polizeiverordnung vom 7. April 1875 zu Recht.

Infolge wiederholter kleinerer Epidemieen, die nach Genuß von dem aus Rußland eingeführten Schweinefleisch entstanden waren, wurde dann durch eine Polizeiverordnung vom 22. Januar 1889 die mikroskopische Untersuchung von allem aus Rußland eingeführten Schweinefleisch angeordnet.

Aber erst vom 6. Februar 1892 datiert die Verordnung, daß alle Schweine, die überhaupt zum Genusse für Menschen verwendet werden, unmittelbar nach der Schlachtung mikroskopisch auf Trichinen untersucht werden müssen. Bis dahin, also bis zum Februar 1892, war es den Gutsherrn, Bauern, Eigentümern, Tagelöhnern, kurz allen Schweinebesitzern gestattet, das zu eigenem Bedarfe geschlachtete Schwein ohne jede weitere Untersuchung in der Familie, dem Gutshaushalte, auch wohl in der Verwandtschaft und Bekanntschaft beliebig zu verwenden, wofern er das Fleisch nicht wirklich weiterverkaufte.

Mithin gibt es erst seit dem Jahre 1892 eine strikt durchgeführte Trichinenschau.

Es leuchtet ein, daß unter solchen Verhältnissen das häufige Vorkommen von verkalkten Muskeltrichinen unter dem älteren Teil der Posener Bevölkerung ganz natürlich ist, da ja die Möglichkeit, sich zu infizieren, hier so ungeheuer viel größer war und ist als in anderen Teilen Deutschlands (cf. Tab. I, Fach V und VI, die Zahlen für Minden und Wiesbaden).

Es ist weiterhin klar, daß auch in neuerer Zeit bei einem Versagen der Fleischschaubestimmungen die Infektionsgefahr hier im Regierungsbezirk Posen ungleich größer sein muß als in den genannten westlichen Bezirken oder z. B. dem Regierungsbezirk Stralsund, wo seit vielen Jahren unter den dort geschlachteten Schweinen nicht ein einziges trichinöses gefunden worden ist. Dementsprechend entfallen auch bis in die neueste Zeit die vereinzelt Fälle oder Endemieen von Trichinosis des Menschen zum allergrößten Teil auf die östlichen Provinzen und sie sind sämtlich darauf zurückzuführen, daß entweder die mikroskopische Untersuchung unterblieben bzw. oberflächlich und fahrlässig ausgeführt wurde, oder daß das trichinös befundene Fleisch gesetzwidrig zum Genusse in rohem oder schwach gekochtem oder geräuchertem Zustande verwendet wurde, sei es daß man das beschlagnahmte Fleisch vor der Vernichtung ganz oder teilweise aus dem Gewahrsam entwendete, sei es daß gewissenlose Händler trotz des Befundes von Trichinen krankes Fleisch verkauften oder zu Wurst verarbeiteten.

Endlich ist es mehrere Male vorgekommen, daß Eigentümer bei Schlachtung mehrerer Schweine, um die Kosten für die Untersuchung

zu sparen, nicht alle Tiere untersuchen ließen, und daß auf diese Weise ein trichinöses Tier gelegentlich der Entdeckung entzogen wurde.

Immerhin bilden diese Fälle, wie die Durchsicht der verschiedenen Jahrgänge des „Gesundheitswesen des preußischen Staates“ zeigt, doch immer nur vereinzelte Ausnahmen, und die Trichinose ist heute eine seltene, der großen Mehrzahl der lebenden Aerzte aus eigener Anschauung nicht bekannte Krankheit. Daß die Trichinosen wie andere durch Tierparasiten hervorgerufene Krankheiten so selten geworden sind, ist ein glänzendes Zeugnis und ein beredter Beweis für die Güte und Zweckmäßigkeit der in Preußen geltenden gesetzlichen Bestimmungen auf dem Gebiete der Fleischbeschau.

Nachdruck verboten.

Agglutine et antiagglutine.

Par le Dr. Fonteyne, assistant à l'université de Gand.

L'agglutine que l'organisme fabrique au cours de certaines infections, disparaît à un moment donné du sang de l'organisme envahi.

Cette disparition suit très probablement de quelque temps l'infection agissante c.-à-d. que l'agglutine disparaît après l'agent infectieux alors que celui-ci a cessé depuis un certain temps à en faire naître.

Le mode intime de cette disparition des agglutines est loin d'être connu. Disparaissent-elles tout doucement comme par usure sans laisser de trace dans l'organisme? Leur disparition se fait-elle sous l'influence d'anticorps nés sous leur impulsion? Est ce la combinaison d'antiagglutine nouvelle avec les agglutines existantes qui neutralise ces dernières?

Plusieurs auteurs Kraus et Eisenberg (1), Walker (2), Pfeiffer et Friedberger (3), Kraus et Joachim (4) se sont intéressés à cette question. Les résultats de ces auteurs furent discordants d'après leurs différents modes d'expérimentation.

Alors que Kraus et Eisenberg ne découvrent pas d'anti-agglutinine, Walker en trouve, et Pfeiffer et Friedberger trouvent des corps enlevant leur valeur aux antitoxines.

Nous avons à nouveau repris l'étude de ce sujet litigieux en tâchant de nous mettre le plus possible à l'abri des erreurs d'expérimentation.

Pour éviter les troubles aléatoires que l'injection de sérum hétérologue peut provoquer dans un nouvel organisme nous nous sommes constamment adressés à des sérums homologues.

Au cours de nos recherches nous avons travaillé avec l'agglutine typhique; cette agglutine est des plus faciles à obtenir et à manipuler.

Avant toute vaccination typhique il est du plus grand intérêt de rechercher le titre agglutinant du sérum normal.

Plusieurs auteurs (Paltauf [5] entre autres) ont trouvé des sérums d'animaux normaux renfermant des agglutines.

Neisser et Lubowsky (6) ont vu des sérums normaux de lapin agglutinant jusque 1:40.

Lœwit (7) trouva d'ordinaire une agglutination du BT avec les sérums des animaux normaux (veau, chat, lapin, cobaye).

Les sérums normaux ont aussi un pouvoir précipitant pour le bacille typhique.

Ascoli et Hoke (8) l'ont démontré. Cette précipitine non spécifique a été découverte dans le sang normal des veaux, chevaux, moutons, des porcs et des chèvres.

Cependant dans le sang de lapins et des cobayes normaux, on n'a pas pu la déceler.

La précipitine spécifique apparaît dans le sang 24 heures après l'injection de bacilles vivants (Gaehstgens [9]) avant toute apparition d'agglutinine.

Pour ce qui regarde la 1^e apparition d'agglutinine dans le sang des animaux normaux, plusieurs auteurs en parlent.

D'après Widal et Sicard (10) les agglutines apparaissent dans le sang 3 jours après l'injection de bacilles typhiques, E. Levy et Bruns (11), Deutsch (12) et Stäubli (13) trouvent le même résultat.

Van Emden (14), Jalta (15) Rodella (16) et Jörgensen (17) le trouvent déjà 2 jours après l'injection.

Gaehstgens trouve des agglutines légères 1:50 après 2 jours mais ne trouve d'agglutination nette 1:250 qu'après 3 jours.

Ces auteurs ne font pas de distinction entre l'injection de bacilles typhiques vivants, et l'injection des bacilles tués.

Depuis que Joas (18) a démontré l'existence de deux agglutines différentes, cette question mérite de fixer un moment notre attention.

Joas a en effet trouvé l'apparition de deux agglutines différentes. L'une α est obtenue par l'injection de bacilles typhiques vivants, si au contraire il injecte des bacilles tués à la chaleur à 60 ou 62°, il obtient une autre agglutine, distincte de la première qu'il appelle β ; si maintenant nous injectons d'une part des animaux avec des bacilles vivants et que d'autre part nous injectons des bacilles tués nous voyons une différence dans le moment d'apparition de l'agglutinine.

Chez les animaux injectés de BT tués à la chaleur à 60°—62° pendant une heure l'agglutinine apparaît quelques heures avant le 3^e jour. Alors qu'elle n'apparaît qu'après le 3^e jour accompli chez les animaux injectés de bacilles vivants.

Lapin I.		titre d'agglutination:		
avant toute injection		1:10		
Injection de bacilles typhiques tués				
1 ^o jour		1:10		
2 ^o "		1:10		
68 ^e heure après l'injection		1:50	1:100	1:250
3 ^o jour accompli 75 heures	1:100	1:700 (des traces) 1:1000 (traces)		
Lapin II.				
avant toute injection		0		
Injection de bacilles tués				
1 ^o jour		0		
2 ^o "		0		
70 heures		1:50	1:100	1:210 (trace légère)
3 ^o jour 72 heures		1:700 (trace)	1:1000 (pas de trace)	
Lapin III.				
avant toute injection		0		
1 ^o jour		0		
2 ^o "		0		
3 ^o "		1:25		
4 ^o "		1:50	1:100 (rien)	
5 ^o "		1:150	1:450	1:1000 (très bien)

Lapin IV.

avant l'injection	0
1 ^o jour	0
2 ^o "	0
3 ^o "	1:40
4 ^o "	1:50 1:100 1:150 (trace)
5 ^o "	1:150 1:450 1:1000 (très bien)

L'agglutine α de Joas apparaît donc un jour environ après l'agglutine β quand on les injecte à des animaux différents.

Les animaux injectés de bacilles typhiques vivant sont plus misérables, que ceux injectés de BT tués.

L'organisme stupéfié sous cette injection violente semble réagir plus lentement et plus difficilement.

Mais une fois apparue dans le sang, l'agglutine α s'y multiplie étonnement vite. Le taux d'agglutination augmente beaucoup plus rapidement que celui de l'agglutine β .

Dès le 5^e jour chez mes 2 animaux le titre d'agglutination dépasse 1:2500 et au 7^e jour à 1:5000 nous obtenons encore des traces d'agglutination.

Le titrage de l'agglutine β au contraire, obtenue par injection de bacilles tués, suit une progression moins rapide.

Au 5^e jour nous n'obtenons pas d'agglutination à 1:2000 et au 7^e jour pas à 1:4000.

Lapin I.

Injection de bacilles tués

5 ^o jour	1:200	1:700 (très bien)	1:1000 (traces)	1:2000 (rien)
6 ^o "	1:2000 (rien)			
7 ^o "	1:2000 (très bien)	1:400 (rien).		

Lapin II.

Injection de bacilles typhiques tués

5 ^o jour	1:200	1:700 (très bien)	1:1000 (traces)
6 ^o "	1:700	1:1000	1:2000 (rien)
7 ^o "	1:2000 (bien)	1:3000 (bien)	1:4000 (rien).

Lapin III.

Injection de bacilles typhiques vivants

5 ^o jour	1:250	1:500	1:2000	1:2500 (traces)
6 ^o "	1:250	1:500	1:2500	1:4000 (bien)
7 ^o "	1:2000	1:3000	1:4000	1:5000 (traces)

Nous voyons que le titre d'agglutination s'élève rapidement lorsqu'on a injecté de bacilles typhiques vivants. Ce fait correspond bien avec les données théoriques qui ont toujours fait considérer l'agglutination comme une manifestation d'infection et non comme un processus de défense.

Les agglutines obtenues différemment l'une par injection de bacilles typhiques tués, l'autre de bacilles typhiques vivants, apparues l'une plus rapidement que l'autre, et développées avec une progression de croissance différente, peuvent bien être deux agglutines différentes, l' α et la β de Joas.

Cependant lorsqu'on fait agir simultanément ces agglutines, elles coordonnent leur action tout à fait comme 2 agglutines de même espèce.

2 agglutines β et 2 agglutines α d'animaux différents coordonnent leur action, tout comme une agglutine α + une agglutine β . Si je prends une goutte de l'agglutine α de l'animal 3 puis une goutte de l'agglutine α de l'animal 4 et que je fais agir ces 2 gouttes ensemble, le titre d'agglutination de ces 2 gouttes donne un titre qui est la somme des titres des 2 gouttes isolées.

De même 2 agglutines β respectivement du lapin I et du lapin II donnent un titre d'agglutination égale à la somme des 2 premiers titres.

Si maintenant je prends une goutte d'agglutine α du lapin III plus une goutte d'agglutine β du lapin I, mes 2 gouttes auront également un titre d'agglutination égale à la somme des 2 premiers titres. Si donc les agglutines α et β se comportent différemment dans leur moment d'apparition et dans leur progression de multiplication leur différence ne doit cependant pas être intime ni essentielle puisque mise en même temps en présence d'une culture jeune de bacilles elles se comportent tout juste comme deux agglutines de même espèce.

Pour la recherche des anti-agglutines j'ai constamment employé le sérum d'animaux injectés de bacilles typhiques tués.

Le titre d'agglutination de mon sérum obtenu par 4 injections de bacilles typhiques tués est de 1:20 000.

Nous avons pris un fort lapin de 3 kilos et nous lui avons injecté de 7 en 7 jours une injection de 40 c. c. de sérum agglutinant 1:20 000. 10 jours après la 4^e injection, nous avons pris une goutte de sérum de cet animal.

Le titre agglutinatif de son sérum normal envers le bacille typhique était de 0.

10 jours après la 4^e injection le sérum de l'animal vacciné avait un titre agglutinant de 1:50 (faible).

Nous avons pris du sérum normal n'agglutinant pas à 1:10.

Le sérum normal 1:10 — 1:25 — 1:40 = —.

Sérum anti-agglutinant 1:10 = + 1:25 = + 1:50 (faible) 1:75 = —.

Nous avons dilué le sérum agglutinant d'une part avec le sérum normal et d'autre part avec du sérum anti-agglutinant dans les proportions données par le tableau suivant:

Une goutte d'une mélange de					Agglutination				
1	goutte de sérum agglutinant	pour	1	goutte de sérum normal	ou	1:50	positive		
1	"	"	4	gouttes	"	1:100	"		
1	"	"	10	"	"	1:500	"		
1	"	"	15	"	"	1:750	"		
1	"	"	19	"	"	1:1000	"		
1	"	"	50	"	"	1:2500	"		
1	"	"	100	"	"	1:5000	"		
1	"	"	150	"	"	1:7000	"		
1	"	"	300	"	"	1:10 000	"		
1	"	"	450	"	"	1:15 000	traces		
1	"	"	600	"	"	1:20 000	"		
1	"	"	750	"	"	1:25 000	rien		
1	"	"	900	"	"	1:30 000	"		
1	"	"	1200	"	"	1:40 000	"		

Une goutte d'une mélange de					Agglutination				
1	goutte de sérum agglutinant	+	1	goutte de anti-agglutinant	ou	1:50	positive		
1	"	"	4	gouttes	"	1:100	"		
1	"	"	10	"	"	1:500	"		
1	"	"	15	"	"	1:750	"		
1	"	"	19	"	"	1:1000	"		
1	"	"	50	"	"	1:2500	"		
1	"	"	100	"	"	1:5000	"		
1	"	"	150	"	"	1:7000	"		
1	"	"	300	"	"	1:10 000	"		
1	"	"	450	"	"	1:15 000	bien		
1	"	"	600	"	"	1:20 000	traces		
1	"	"	750	"	"	1:25 000	"		
1	"	"	900	"	"	1:30 000	rien		
1	"	"	1200	"	"	1:40 000	"		

Ce résultat était à prévoir puisque le sérum anti-agglutinant possédait un certain pouvoir d'agglutination.

J'ai alors de jour en jour pris du sérum de l'animal en question. Le 15^e jour après la dernière injection son sérum agglutinait encore à 1:10 et à 1:25. Il n'agglutinait plus à 1:50 plus à 1:75.

20 jours après la dernière injection il n'agglutinait plus du tout, ni à 1:10 ni à 1:25 ni à 1:50.

Le lendemain je le saigne à blanc et je fais le titrage de l'agglutination.

										Agglutination
1	goutte de sérum agglutinant	plus	50	gouttes de sérum normal	ou	1:2500	positive			
1	"	"	"	"	"	1:5000	"			
1	"	"	"	"	"	1:7500	traces			
1	"	"	"	"	"	1:10 000	rien			
1	"	"	"	"	"	1:15 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:20 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:25 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:30 000	"			
1	goutte de sérum agglutinant	plus	50	gouttes de anti-agglutinant	ou	1:2500	positive			
1	"	"	"	"	"	1:5000	"			
1	"	"	"	"	"	1:7500	traces			
1	"	"	"	"	"	1:10 000	rien			
1	"	"	"	"	"	1:15 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:20 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:25 000	"			
1	"	"	"	"	"	1:30 000	"			

Les traces d'agglutination ont été examinées microscopiquement et macroscopiquement. Elles paraissent macroscopiquement semblables dans les 2 épreuves. Et microscopiquement le nombre des bacilles libres et des bacilles agglutinés n'offre pas de différence appréciable.

Nous pouvons donc conclure que le sérum de notre animal vacciné par 4 injections de 10 c. c. de sérum agglutinant se comporte tout juste comme le sérum normal. Il ne contient pas d'anticorps empêchant ou diminuant l'agglutination, ni pendant l'existence des dernières traces d'agglutination (ce qui était à prévoir), mais également pas le lendemain après la disparition de toute agglutine appréciable.

Il n'existe donc pas d'anti-agglutine. Nous avons 5 jours après fait une double expérience a fortiori.

D'une part nous avons pris l'animal vacciné avec l'agglutine et 5 jours après toute disparition de cette dernière nous lui avons injecté sous la peau une dose certainement mortelle de bacilles typhiques vivants.

Il s'est comporté comme un animal normal pour ce qui regarde le moment d'apparition et le développement de l'agglutine

le 4^e jour sérum agglutine à 1:50 1:100

le 5^e jour sérum agglutine à 1:200 et plus.

L'animal a survécu. Il semble donc que ces injections répétées de sérum anti-typhique lui aient donné une résistance envers le bacille typhique.

D'autre part j'ai inoculé sous la peau à un animal normal en même temps 10 c. c. de sérum anti-agglutinique et une dose certainement mortelle de bacilles typhiques vivants. L'agglutine spécifique est apparue dans le sang

le 4^e jour 1:150

le 5^e jour l'animal était mort.

De ces expériences in vivo nous pouvons conclure qu'il ne se forme pas d'anticorps neutralisant l'action de l'agglutine et empêchant l'action de l'anti-agglutine.

Conclusions générales.

1) L'agglutine β c.-à-d. celle obtenue par injection de bacilles typhiques tués apparaît plus rapidement que l'agglutine α obtenue par injection de bacilles typhiques vivants.

2) Le titre d'agglutination suit une courbe de croissance plus rapide chez l'animal injecté de bacilles typhiques vivants que chez celui injecté de bacilles typhiques tués.

3) 2 agglutines d'animaux différents de même espèce coordonnent leur pouvoir d'agglutination.

4) Les agglutines α et β coordonnent également leur pouvoir d'agglutination et leur différence ne peut pas être essentielle.

5) Il ne se forme pas d'anticorps s'opposant à l'action de l'agglutine et le sérum de animaux vaccinés se comporte tout comme le sérum normal.

6) Dans l'organisme des animaux vaccinés par du sérum agglutinant, ou des animaux producteurs de sérum anti-agglutinant, il ne se forme ou il n'existe pas d'anticorps empêchant l'action de l'antigène agglutinique.

7) Toute agglutination macroscopique demande à être vérifiée microscopiquement a) pour éviter les erreurs de précipitation par précipitation spécifique; b) pour éviter de prendre des flocons de bacilles typhiques déposés au fond pour des bacilles agglutinés; c) il arrive qu'un tube effilé après 3 heures de séjour à l'étuve présente un trouble très épais du fond avec parties supérieures plus claires donnant une illusion d'agglutination, alors que l'on peut se trouver en présence de troubles profonds dus à une culture excessivement abondante du bacille pendant le séjour du tube à l'étuve.

Bibliographie.

- 1) Kraus u. Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. p. 208.
- 2) Walker, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.
- 3) Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. p. 131.
- 4) Kraus u. Joachim, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.
- 5) Paltauf, Die Agglutination. (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathog. Mikroorganismen Bd. 4. p. 670. ff.)
- 6) Lubowsky u. Neisser, Läßt sich durch Einspritzung von agglutinierten Typhusbacillen eine Agglutininproduktion hervorrufen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. Orig. Bd. 30. p. 483.)
- 7) Löwit, Ueber Niederschlagungsbildung bei der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 156—166. 256—259.)
- 8) Ascoli, Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. (Münchener med. Wochenschr. 1903. p. 201, 204.)
- 8 bis) Hoke, Ueber Bakterienpräzipitation durch normale Sera. (Wien. klin. Wochenschrift. Jg. 20. 1907. p. 347—348.)
- 9) Gaehdgens, Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 223—245.)

- 10) Widal u. Sicard, Etude sur le séro-diagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 11. 1897. No. 5. p. 353.)
- 11) Levy, E. u. Bruns, Beiträge zur Lehre der Agglutination. (Berl. klin. Wochenschrift. Jg. 34. 1897. p. 491—493, 574.)
- 12) Deutsch, Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 12. 1899. No. 9. p. 689—727.)
- 13) Stäubli, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Deszendenden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. p. 291 bis 300, 441—454.)
- 14) Van Emden, Ueber die Bildungsstätte der agglutinierenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. p. 19—32.)
- 15) Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Typhusbacillen und die Mikroorganismen der Coligruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900. p. 185—234.)
- 16) Rodella, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei Proteus vulgaris. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. 1900. p. 583—591.)
- 17) Jörgensen, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38 1905. p. 475—481, 556—570, 679—703.)
- 18) Joos, Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 23. No. 10.)

Nachdruck verboten.

Anti-antitoxine.

Par le Dr. Fonteyne, assistant à l'Université de Gand.

Alors que la question des anti-agglutinines ne présente qu'un intérêt scientifique, l'existence ou la non-existence des anti-antitoxines est au contraire du plus grand intérêt pratique.

Dans la maladie du sérum, y a-t-il à côté des phénomènes troublants de l'Anaphylaxie, d'autres problèmes encore qui agissent soit pour diminuer la valeur des injections curatives et pour en augmenter le danger? Les antitoxines qu'une injection nouvelle apporte à l'organisme, peuvent-elles agir librement comme les premières, ou se trouvent-elles en présence d'un anticorps nouveau, qu'ils ont d'abord à combattre?

Plusieurs auteurs, Kraus et Eisenberg (1), Walker (2), Pfeiffer et Friedberger (3), Kraus et Joachim (4), ont étudié la question des antitoxines.

Les résultats furent discordants. Kraus et Eisenberg ne découvrirent pas d'anti-antitoxine ni d'anti-agglutinine, alors que Walker trouve des anti-agglutinines et Pfeiffer et Friedberger des corps enlevant leur valeur aux antitoxines.

Plus près de nous Dehne et Hamburger (5) ont trouvé des anti-antitoxines.

Ces auteurs se sont toujours adressés à des sérums étrangers. Sans vouloir contester la valeur des expériences de ces auteurs, leurs conclusions semblent un peu prématurées.

Chez les animaux qui n'ont jamais été injectés d'une antitoxine donnée, il ne s'est certainement pas formé d'anticorps spécifiques puisque l'antigène n'a pas été injecté. Ce qui s'est produit, ce sont des anticorps sériques qui probablement ont détruits certains corps absolument nécessaires comme protecteurs ou véhicules des antitoxines.

Sacharoff (7) reprenant les expériences de Dehne et Hamburger constate non seulement que les animaux ont perdu toute résistance à la toxine mais ils présentent même moins de résistance que

les normaux contre une injection de toxine diphtérique. Il semblerait rationnel de conclure avec l'auteur que la formation des anti-antitoxines ait enlevée à l'animal même la résistance que lui confère ses antitoxines normales. Mais je ne m'explique pas bien la disparition si rapide de l'antitoxine diphtérique spécifique dans les humeurs des animaux préalablement injectés de sérum normal de cheval à moins d'admettre la destruction de l'anticorps diphtérique par une antitoxine non spécifique du sérum. On tend ainsi à enlever toute spécificité aux antitoxines.

Il semble plus rationnel d'admettre que l'antitoxine a besoin d'un autre corps comme véhicule ou comme moyen d'existence. Et ce corps inconnu du sérum normal, en devenant anticorps, perdrait ses propriétés de véhicule ou de corps nourricier.

M^r Weil et H^r Lemaire (8) dans un travail récent tendent à expliquer que l'anti-antitoxine de Wassermann et Bruck (9) n'est pas un anticorps de l'antitoxine, mais un anticorps qui s'opposerait à une substance étrangère chargée d'antitoxine. D'ailleurs la durée plus longue des immunités passives conférées par un sérum de même espèce ne semble-t-il pas montrer l'existence dans le sérum hétérologue, d'un antigène, provoquant chez l'animal injecté l'apparition d'un anticorps diminuant l'action de l'antitoxine. De plus le raccourcissement de la durée de l'immunité après des injections successives de sérum antitoxique hétérogène (Weil et Halle et H^r Lemaire) plaide en faveur de la formation d'un anticorps sérique inconnu encore mettant l'antitoxine dans des conditions inférieures aux normales.

En résumé toutes ces expériences ne peuvent pas démontrer d'une manière évidente l'existence ou la non-existence des anti-antitoxines.

Il y a tant d'éléments étrangers, tant d'aléas expérimentaux du fait seul de l'injection du sérum étranger, qui viennent troubler le problème, que la question ne peut pas être considérée comme résolue.

Donnons avec Bordet (10) ce que l'on peut trouver dans un sérum curatif ou préventif.

»Ce sont en premier lieu les antitoxines, les premières découvertes (Behring), qui abolissent la toxicité des poisons microbiens. Ce sont les agglutinines, immobilisant les microbes et les amoncelant en flacons, que j'ai observées dans le sérum anticholérique, et que Gruber et Durham ont retrouvées dans des sérums divers, actifs contre des microbes variés (Bacille typhique, bacille coli etc.); ce sont les matières que j'ai nommées sensibilisatrices, parce qu'elles ont la propriété de rendre les microbes remarquablement sensibles à l'influence délétère de certains principes normaux (alexines), existant tant chez les animaux neufs que chez les vaccinés; dans le liquide sanguin et dans certains humeurs.«

Tels sont les divers éléments constitutifs de ce premier sérum. Tous ces corps et anticorps et tant d'autres produisent lors de l'injection à l'animal étranger des multiples anticorps spécifiques.

Une simple revue de ces faits montre combien de conditions étrangères peuvent venir troubler le terrain d'expérimentation.

Nous avons tâché d'éviter toute immixtion de causes étrangères dans la résolution du problème qui nous occupe.

Dans ce but nous nous sommes attachés à n'injecter que des sérums homologues.

On pouvait peut-être nous répondre que l'injection d'un sérum homologue ne provoque ou ne stimule pas la production d'anticorps. Ces

hypothèses ne savent être invoquées ici. L'antitoxine, spécifique ou devenue spécifique, ne se présente pas chez l'animal avec son caractère nouveau.

Sa spécificité le rend étranger à l'animal, et doit permettre à l'organisme de réagir contre ce seul corps nouveau. Et l'anti-antitoxine doit pouvoir se former comme chez un animal normal, c. à. d. en dehors des multiples troubles qu'entraîne nécessairement l'injection de sérum hétérologue. Nous avons commencé par vacciner 2 forts lapins avec de la ricine.

La ricine employée par nous provient de la maison Merck.

Après avoir établi la dose minima mortelle nous avons vacciné lentement et progressivement nos animaux par des injections sous-cutanées à doses croissantes.

Après 3 mois de vaccination le sérum de nos animaux avait acquis un pouvoir antitoxique neutralisant 20 doses mortelles de ricin.

La dose initiale mortelle était de 0,2 milligramme par kilo de lapin.

Nous avons saigné à blanc nos animaux vaccinés. Le sérum antiricinique ainsi obtenu a été injecté à un fort lapin normal de manière à lui faire tous les huit jours une injection de 10 cm³ de sérum antiricinique.

L'animal reçut en tout 4 injections. 10 jours après la dernière injection nous vérifions l'état de précipitation du sérum anti-antiricinique et nous obtenons le résultat suivant :

sérum antiricinique			sérum anti-antiricinique		
sérum anti-ricinique	Solution de ricin	précipite	sérum anti-antiricinique	Solution de ricin	précipite
1 g	10 g	très bien	1 g	10 g	très bien
1 g	25 g	—	1 g	25 g	—
1 g	50 g	—	1 g	50 g	bien
1 g	75 g	—	1 g	75 g	pas
1 g	100 g	—	1 g	100 g	pas
1 g	250 g	—	1 g	250 g	pas

La solution de ricin employée est de 1 ctgr pour 100 grammes d'eau distillée.

Les précipitations de contrôle avec le sérum normal sont toutes négatives.

12 jours après la dernière injection le sérum anti-antiricinique en précipite plus.

2 jours plus tard nous saignons l'animal à blanc. Nous contrôlons alors la valeur antitoxique de notre nouveau sérum anti-ricinique car rien n'empêche ce sérum d'être encore simplement antiricinique.

4 lapins sont injectés avec des doses certainement mortelles de ricin soit 0,2 mg par kilo et injectés en même temps de doses croissantes de sérum anti-antiricinique.

Ils meurent tous.

	Doses de ricin	Doses de sérum anti-antiricinique	
Lapin 1	0,2 mg. p. Kilo	2 cm ³	mort en 12 heures
" 2	id	4 "	" après 35 "
" 3	"	6 "	" " 2 jours
" 4	"	10 "	" " 4 "

Erste Abt. Orig. Bd. 52

Heft 3.

25

Le sérum anti-antiricinique ne possède plus aucun pouvoir précipitant, ni aucun pouvoir protecteur ou immunisant.

Nous mettons alors notre sérum anti-antiricinique macérer, pendant 8 jours avec le sérum antiricinique.

Le sérum que nous employons est tel que 1 cm³ de sérum antiricinique protège sûrement contre 10 doses mortelles mais ne protège pas contre 15 doses mortelles.

1 cm³ de ce sérum est mis macérer avec des doses progressivement croissantes de sérum anti-antiricinique dans cette proportion.

1 cm ³ sérum antiricinique +	1 cm ³ sérum anti-antiricinique
1 " " " + 2 " " "	
1 " " " + 4 " " "	
1 " " " + 6 " " "	
1 " " " + 8 " " "	
1 " " " + 10 " " "	

Après 8 jours de macération, ces divers mélanges sont injectés à une série de lapins.

Ces animaux reçoivent en même temps sous la peau la dose maximale mortelle contre laquelle 1 cm³ de sérum antiricinique protège soit 2 mg. par kilo d'animal.

	Doses de ricin	doses de mélange	
Lapin 1	2 ml. p. k.	1 cm ³ antir. + 1 cm ³ anti-antir.	leger amaigrissement survit
" 2	—	1 + 2	—
" 3	—	1 + 4	—
" 4	—	1 + 6	—
" 5	—	1 + 8	—
" 6	—	1 + 10	—

Tous ces animaux survivent. Le sérum antiricinique a conservé son pouvoir antitoxique malgré sa macération pendant 8 jours avec un sérum qui devait contenir de l'anti-antiricin.

Le sérum de l'animal injecté avec du sérum antiricinique n'a pas acquis le pouvoir de détruire l'action antitoxique du premier sérum. Il ne s'est donc pas formé d'anti-antitoxine ricinique.

Ce qui plus est les animaux ayant servi au titrage du pouvoir immunisant du sérum antiricinique et qui ont survécu à cette épreuve, sont dans les conditions suivantes. Ils ont reçu une dose de ricin plusieurs fois mortelle, et une quantité de sérum les ayant préservé de la mort. Si à ces animaux, 8 à 10 jours après la première injection, alors que leur sérum ne précipite plus la ricin, l'on injecte une nouvelle dose de ricin plusieurs fois mortelle, ils survivent. L'organisme au lieu d'élaborer des anti-antitoxines, sous la stimulation des antitoxines non utilisées pour préserver l'animal a concouru à le vacciner plus rapidement.

C'est là peut être une nouvelle voie dans l'étude de certaines vaccinations difficiles.

Conclusions.

1. Le sang d'un animal vacciné au moyen d'un sérum antiricinique conserve quelque temps après la dernière injection un pouvoir antitoxique qui diminue rapidement.

2. Ce pouvoir antitoxique peut presque se mesurer au pouvoir précipitant du sérum.

3. Après la disparition des antitoxines il ne se forme pas d'anticorps de l'antitoxine, c. à. d. d'anti-antitoxines.

4. Les antitoxines non utilisées par l'organisme dans sa défense contre une première dose mortelle de toxine, non seulement n'engendrent pas d'anti-antitoxines, mais facilitent même la vaccination de l'animal en permettant la formation rapide de nouvelles antitoxines primitives, c. a. d. dans ce cas particulier d'antiricinique.

Déjà dans l'étude du problème de l'anaphylaxie l'on a démontré que les antitoxines n'interviennent pour rien dans la production de ce phénomène.

Là non-existence des anti-antitoxines permettra du coup, d'écarter toutes les hypothèses que leur prétendue existence a fait naître.

L'injection d'un sérum préventif ne sera jamais dangereux par la formation d'anti-antitoxines. Tout le danger de ces injections préventives, pour des injections ultérieures restera cantonné dans le terrain de l'anaphylaxie.

Cette constatation deviendra consolante si un jour l'on parvient à éviter les phénomènes anaphylactiques. Elle permettra de faire durer à son gré la durée de l'immunité acquise par des injections répétées de sérum protecteur ou curateur.

L'immunité passive ne cesse pas, parce qu'il se produit des anticorps de l'antitoxine. D'autres processus interviennent dans cette disparition parmi lesquelles le renouvellement de la masse sanguine, l'antitoxine, en effet circule dans le sang et s'y dilue.

Bibliographie.

- 1) Kraus und Eisenberg, l. c.
- 2) Walker, l. c.
- 3) Pfeiffer und Friedberger, l. c.
- 4) Kraus und Joachim, l. c.
- 5) Dehne und Hamburger, l. c.
- 6) Parker Gay, Travail de Bordet cité.
- 7) Sacharoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 99.
- 8) Weil et Lemaire, H., Caractères de l'immunité passive conférés par la sérum-thérapie. (Presse médic. 1908.)
- 9) Wassermann und Bruck.
- 10) Bordet, La valeur de la sérothérapie d'après les recherches récentes sur l'immunité. (Bull. soc. roy. des sciences médic. et natur. de Bruxelles. 4. déc. 1905.)

Nachdruck verboten.

Anti-hémolysines ou anti-sensibilisatrices.

Par le Dr. Fonteyne, Assistant à l'Université de Gand.

Dans un petit opusculé „La valeur de la sérothérapie d'après les recherches sur l'immunité“, Mr. Bordet signale l'existence d'une anti-sensibilisatrice dans l'antisérum.

Cette antisensibilisatrice décrite par Bordet et universellement admise est une antisensibilisatrice obtenue par injection du sérum hémolytique à un animal d'espèce étrangère. L'antisérum est un sérum d'autre nom que le sérum hémolytique.

Après l'étude que nous avons entrepris sur les anti-agglutinines et les anti-antitoxines de sérum homologue il nous paraît intéressant de rechercher si réellement un antisérum homologue renfermait également une antisensibilisatrice. Nous avons fait un sérum de lapin hémolytique A pour des globules de cobayes. A cet effet nous avons à cinq reprises différentes injecté à un lapin des globules rouges lavés de cobayes; les injections furent espacées de cinq en cinq jours.

Nous avons obtenu ainsi un sérum lapin A hémolytique pour les globules rouges de cobayes. Ce sérum a été injecté de 8 en 8 jours à la dose de 10 cm³ à un autre lapin.

8 jours après la 4^{me} injection nous avons saigné notre animal à blanc et nous avons obtenu un antisérum B de lapin.

Cet antisérum B possède le pouvoir antihémolytique comme l'expérience suivante le montre.

Si dans une série de tubes contenant de l'eau physiologique et une goutte de globule rouge de cobaye j'ajoute par série progressive des gouttes de mon antisérum, j'obtiens l'hémolyse dans la 1^{re} série de tubes ou j'ai ajouté moins de dix gouttes de sérum.

Dans la série des tubes ou je dépasse dix gouttes d'antisérum, l'hémolyse ne se produit pas.

Globules rouges de cobaye			Antisérum	
1 ^o tube	1 goutte	+	1 goutte	hémolyse nette
2 ^o "	1 "	+	2 gouttes	id.
3 ^o "	1 "	+	3 "	"
4 ^o "	1 "	+	4 "	"
5 ^o "	1 "	+	5 "	"
6 ^o "	1 "	+	6 "	"
7 ^o "	1 "	+	7 "	"
8 ^o "	1 "	+	8 "	hémolyse
9 ^o "	1 "	+	9 "	hémolyse (traces)
10 ^o "	1 "	+	10 "	peu d'hémolyse
11 ^o "	1 "	+	11 "	pas d'hémolyse
12 ^o "	1 "	+	12 "	id.
13 ^o "	1 "	+	13 "	"
14 ^o "	1 "	+	14 "	"
15 ^o "	1 "	+	15 "	"
16 ^o "	1 "	+	16 "	"
17 ^o "	1 "	+	17 "	"
18 ^o "	1 "	+	18 "	"
19 ^o "	1 "	+	19 "	"
20 ^o "	1 "	+	20 "	"

Il existe donc bien dans l'antisérum homologue des antisensibilisatrices.

Nachdruck verboten.

Weitere Beobachtungen über Anwendung des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfverfahrens in der Praxis, nebst einem Nachtrag über Taurumanimpfungen.

[Aus dem Veterinär-Institut der Universität Leipzig.]

Von Prof. Dr. A. Eber, Institutsdirektor.

Im September 1907 habe ich erstmalig über die bei Anwendung des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfverfahrens in der Praxis gesammelten eigenen Erfahrungen ausführlich Bericht erstattet¹⁾. Es handelte sich hierbei zunächst um die Erprobung des praktischen Wertes der v. Behringschen Schutzimpfung, jetzt Bovovaccination genannt, die bekanntlich in der möglichst frühzeitigen, zweimal mit dreimonatiger Pause auszuführenden, intravenösen Einspritzung einer ihrem Virulenzgrade nach genau bekannten Emulsion ursprünglich vom Menschen stammender Tuberkelbacillen besteht.

Die daselbst mitgeteilten Versuche wurden im Januar 1904 auf zwei größeren Zuchtwirtschaften in der Altmark begonnen und allmählich auf insgesamt 8 der Mehrzahl nach im Königreich Sachsen gelegene Güter mit verschiedenen, zum Teil voneinander wesentlich abweichenden wirtschaftlichen Verhältnissen ausgedehnt. Auf Grund der bei diesen Versuchen während eines dreijährigen Zeitraumes gesammelten Erfahrungen, unterstützt durch die Ergebnisse eines in derselben Zeit in den Stallungen des Veterinärinstituts durchgeführten verstärkten natürlichen Infektionsversuches, hielt ich mich zu der Annahme berechtigt, daß den Rindern durch das v. Behringsche Tuberkuloseschutzimpfverfahren ein ausreichender Schutz gegen die natürliche Tuberkuloseansteckung nicht verlihen werde, und daß es daher aussichtslos erscheine, mit Hilfe des Schutzimpfverfahrens allein die Rindertuberkulose in stark verseuchten Beständen zu bekämpfen. Bezüglich der Einzelheiten in der Durchführung der Versuche, sowie der erzielten Ergebnisse, sei auf die oben zitierte Veröffentlichung verwiesen.

Seit Aufstellung jener ersten Uebersicht über die praktischen Erfolge der v. Behringschen Schutzimpfung sind wiederum 2 Jahre verflossen. Es dürfte daher von Interesse sein, über die späteren Schutzimpfungen und über das weitere Verhalten der in den Jahren 1904—1907 nach obigem Verfahren geimpften Rinder einer erneuerten Tuberkulinprobe gegenüber, und endlich über die Ergebnisse der inzwischen erfolgten weiteren Schlachtungen und Sektionen Näheres zu erfahren.

Es ist selbstverständlich, daß das dieser Zusammenstellung zugrunde liegende Material wiederum überwiegend die v. Behringsche Schutzimpfung betrifft. Die wenigen auf Taurumanimpfungen bezüglichen Ergebnisse habe ich in einem Nachtrage besonders besprochen. Das den gesamten Ausführungen zugrunde liegende Tatsachenmaterial ist genau wie bei der ersten Veröffentlichung in einem Anhang übersichtlich zusammengestellt.

Was lehren nun die mit Hilfe der Tuberkulinprobe auf den Versuchsgütern erzielten Ergebnisse?

Ueber den Wert der Tuberkulinprobe bei den einer einmaligen bezw. zweimaligen Schutzimpfung unterworfenen Rindern habe ich mich bereits in meiner ersten Veröffentlichung ausführlich geäußert. Die in der

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. No. 5 u. 6.

Zwischenzeit gesammelten Erfahrungen haben mich in der schon damals geäußerten Auffassung nur bestärkt, die ich dahin präzisiert hatte (l. c. p. 591), daß der positive Ausfall einer mindestens $\frac{3}{4}$ Jahre nach der letzten Schutzimpfung ausgeführten Tuberkulinprobe mit der gleichen Sicherheit wie bei nicht schutzgeimpften Tieren für eine tuberkulöse Herderkrankung spricht, während der negative Ausfall der Tuberkulinprobe nicht ohne weiteres als Beweis für das Fehlen tuberkulöser Herderkrankungen angesehen werden kann.

Hiernach erscheint es von vornherein ausgeschlossen, daß die mit Hilfe der Tuberkulinprobe ermittelten Verseuchungsziffern im Vergleich zur Wirklichkeit etwa zu hoch gegriffen sind. Eher schon könnte man behaupten, daß die mit Hilfe der Tuberkulinprobe erlangten Ergebnisse im Vergleich zu den durch Schlachtung bzw. Sektion erlangten ein etwas zu günstiges Bild von der tatsächlichen Tuberkulosedurchseuchung der geprüften Bestände entwerfen, was bei der Würdigung des Gesamtergebnisses der Tuberkulinprobe wohl zu beachten ist.

Was nun zunächst das Gesamtergebnis der im November 1908 und im Januar bzw. Juli 1909 auf den Versuchsgütern ausgeführten Tuberkulinproben anbetrifft, so wurden insgesamt 90 vorschriftsmäßig immunisierte Rinder im Alter von $1\frac{1}{2}$ — $5\frac{1}{2}$ Jahren geprüft, bei denen mindestens 1 Jahr nach Ausführung der letzten Schutzimpfung verflossen war. Von diesen reagierten 47 = 52,2 Proz.

Auf die verschiedenen Altersklassen verteilen sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

Von 20 Rindern im Alter von $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren reagierten	8 = 40 Proz.
„ 24 „ „ „ „ $2\frac{1}{4}$ —3 „ „	11 = 45,8 „
„ 14 „ „ „ „ $3\frac{1}{4}$ —4 „ „	6 = 42,9 „
„ 32 „ „ „ „ $4\frac{1}{4}$ — $5\frac{1}{2}$ „ „	22 = 68,8 „

Diese Prozentzahlen lassen deutlich die mit dem Alter und der zunehmenden wirtschaftlichen Ausnutzung der Rinder steigende Tuberkuloseverseuchung erkennen, die man erfahrungsgemäß in stark tuberkulösen Rinderbeständen anzutreffen pflegt.

Noch deutlicher tritt der geringe Schutz der immunisierten Tiere gegenüber der natürlichen Stallinfektion zutage, wenn man unter den 90 mit Tuberkulin geprüften Rindern diejenigen auswählt, welche einer zweimaligen Tuberkulinprobe (Ende 1906 und Ende 1908 bzw. Anfang 1909) unterzogen wurden. Es sind das insgesamt 55 Rinder. Von diesen reagierten bei der ersten Tuberkulinprobe 17 = 30,9 Proz. und bei der zweiten ca. 2 Jahre später vorgenommenen Probe 32 = 58,2 Proz.

Legt man endlich der vergleichenden Betrachtung nur die 38 bei der ersten Tuberkulinprobe nicht reagierenden Rinder zugrunde, so reagierten von diesen damals zum überwiegenden Teile jedenfalls noch tuberkulosefreien Rindern 2 Jahre später bereits 16 = 42,1 Proz.

Aus diesen Feststellungen geht unzweifelhaft hervor, daß die Bovovaccination ohne wesentlichen Einfluß auf die mit dem Alter und der gesteigerten wirtschaftlichen Ausnutzung zunehmende Tuberkuloseverseuchung des Nachwuchses geblieben ist.

Einen etwas günstigeren Eindruck von der Wirkung der v. Behring'schen Schutzimpfung gewinnt man, wenn man die Erfolge im einzelnen durchgeht, die auf den verschiedenen Gütern erzielt worden sind,

wobei neben den so verschiedenartigen wirtschaftlichen Verhältnissen vor allem auch die in weiten Grenzen schwankende, durch persönliches tatkräftiges Eingreifen des Besitzers bekanntlich sehr wohl zu beeinflussende Infektionsgefahr einen wesentlichen Einfluß auf das Ergebnis ausgeübt hat. Die Details sind aus den im Anhang enthaltenen Einzeldarstellungen zu ersehen.

Am relativ günstigsten schneidet auch dieses Mal wieder das kleinste unter den Versuchsgütern, nämlich das Versuchsgut IV, ab. Ich habe schon in meiner ersten Veröffentlichung (l. c. p. 592) auf die besonderen Umstände hingewiesen, die auf diesem Gute den Kampf gegen die Tuberkulose erleichtert haben, so daß man hier mit Recht von einer Kombination der Schutzimpfung mit einfachen, nach der Lage der Verhältnisse leicht durchführbaren hygienischen Maßnahmen sprechen kann. Von 20 immunisierten Rindern reagierten bei der letzten Tuberkulinprobe nur 1 = 5 Proz., und während zu Beginn des Versuches vor 5 Jahren von 16 über $\frac{1}{2}$ Jahre alten Rindern 7 = 43,8 Proz. reagierten, reagieren gegenwärtig von 25 über $1\frac{1}{2}$ Jahre alten Rindern nur 6 = 24 Proz.

Auch bei Versuchsgut V, welches in der ersten Veröffentlichung mit die ungünstigsten Ergebnisse aufwies, ist zu erkennen, daß die allmählich von dem Besitzer mit wachsendem Eifer und Verständnis eingeführten hygienischen Maßnahmen (schnelle Ausmerzungen der offensichtlich tuberkulösen Rinder und Aufzucht der Kälber mit einwandsfreier Milch) das Gesamtbild günstig zu beeinflussen beginnen. So hat vor allem die Verseuchungsziffer unter den älteren, schon im November 1906 mit Tuberkulin geprüften Rindern nicht zugenommen, und die Zahl der Kälber, die bei der der Schutzimpfung jetzt regelmäßig vorausgehenden Tuberkulinprobe reagieren, abgenommen.

Nicht befriedigt hat dagegen das Ergebnis auf Versuchsgut III, dessen Besitzer der Schutzimpfung von Anfang an großes Interesse entgegenbrachte und auch durch Einrichtung von Jungviehweiden den Gesundheitszustand seines großen und wirtschaftlich intensiv ausgenutzten Rinderbestandes zu heben suchte. Leider war es dem Besitzer aus wirtschaftlichen Gründen zunächst nicht möglich, seinen Bestand, den er fortgesetzt durch Zukauf zu vergrößern gezwungen war, in ausreichender Weise von den offensichtlich tuberkulösen Tieren zu säubern und die Ernährung der Kälber mit einwandsfreier Milch durchzuführen. Wie groß die Ansteckungsgefahr in solchen Rinderstallungen ist, und wie wenig die im ersten Lebensjahre vorgenommene Immunisierung für sich allein hiergegen etwas auszurichten vermag, geht aus der Feststellung hervor, daß sich die Verseuchungsziffer bei den schutzgeimpften Rindern innerhalb eines Zeitraumes von $2\frac{1}{2}$ Jahren genau verdoppelt hat. Sowohl auf Versuchsgut III wie auch auf Versuchsgut V soll die Schutzimpfung nunmehr alljährlich, und zwar zunächst nach der Schilfsäckchenmethode von Professor Heymans-Gent wiederholt werden.

Von Interesse sind endlich noch die auf den Versuchsgütern I und II, sowie auf dem Versuchsgute VII erlangten Ergebnisse insofern, als sie überzeugend dartun, daß ohne gleichzeitige prophylaktisch-hygienische Maßnahmen durch die Schutzimpfung allein ein nennenswerter Rückgang in der Tuberkulosedurchseuchung großer und wirtschaftlich intensiv ausgenutzter Rinderbestände nicht zu erzielen ist. Da die Besitzer der genannten drei Güter für die Durchführung der-

artiger Maßnahmen keine bindende Zusagen geben konnten, wurden die Versuche auf diesen Gütern abgebrochen.

Ganz ähnlich gestalteten sich die Verhältnisse auf dem Versuchsgut VI, jedoch wurden hier die Schutzimpfungen zu Anfang des Jahres 1908 nach einjähriger Unterbrechung, und zwar nunmehr ausschließlich nach der Schilfsäckchenmethode von Professor Heymans-Gent wieder aufgenommen.

Es kann hiernach keinem Zweifel unterliegen, daß nur auf denjenigen Gütern überhaupt ein merkbarer, wenn auch mit vielleicht einer einzigen Ausnahme nur bescheidener Rückgang in der Tuberkuloseverseuchung zu verzeichnen war, auf denen neben der v. Behringschen Schutzimpfung, die auf allen Gütern in ganz gleicher Weise zur Ausführung kam, zugleich prophylaktisch-hygienische Maßnahmen in Anwendung gebracht wurden, und daß der Grad der erzielten Besserung direkt abhängig war von dem Umfange und der konsequenten Durchführung dieser Maßnahmen.

Was lehren nun die bei den geschlachteten bzw. verendeten immunisierten Rindern ermittelten Obduktionsbefunde?

Durch Sektion bzw. Schlachtung konnten seit der letzten Berichterstattung im Jahre 1909 weitere 22 Fälle kontrolliert werden, und zwar 21 Fälle, in denen die v. Behringsche Schutzimpfung und 1 Fall, in dem die Taurumanimpfung Anwendung gefunden hatte. Die einzelnen Befunde sind, nach Versuchsgütern geordnet, im Anhang am Schluß der Abhandlung mitgeteilt. Die Numerierung ist fortlaufend und schließt unmittelbar an Fall 19 der ersten Veröffentlichung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 604) an. Die Kontrolle erfolgte wie in den früheren Fällen meist direkt an Ort und Stelle durch einen Assistenten des Instituts oder durch einen anderen mit der Sachlage vertrauten Tierarzt. In einigen wenigen Fällen mußten wir die auf ihre Glaubwürdigkeit nach Möglichkeit von uns nachgeprüfte Aussage des Fleischers der Diagnose zugrunde legen. Die Art der Kontrolle ist aus der Zusammenstellung in jedem Falle zu ersehen. Wir besprechen hier zunächst nur die 21 Fälle, welche bovovaccinierte Rinder betreffen.

Unter diesen sind zunächst 2 Fälle hervorzuheben, welche 2 Kälber betreffen, die im Alter von $2\frac{1}{2}$ Monaten trotz positiver Tuberkulinreaktion erstmalig schutzgeimpft wurden und 11 bzw. 14 Tage nach der Impfung unter den Erscheinungen der Lungenentzündung verendeten (Fall 39, 40). Die Sektion ergab bei beiden Kälbern eine ausgedehnte chronische Pleuratuberkulose, käsige, tuberkulöse Bronchopneumonie und chronische Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose; daneben aber eine ganz frische Miliartuberkulose der Lunge und frische lobäre Pneumonie der beiden Vorderlappen. Der Befund erinnerte auffallend an den Befund, den man bei Versuchstieren erhebt, die subkutan mit virulenten Tuberkelbacillen infiziert worden sind und 30—40 Tage nach der Infektion an akuter Miliartuberkulose zugrunde gehen, nur war die Miliartuberkulose in den obigen beiden Fällen nicht so deutlich ausgeprägt und nur mikroskopisch sicher nachzuweisen. Die tödliche Miliartuberkulose dürfte in den obigen Fällen, in denen bereits eine ausgebreitete Lungen- und Pleuratuberkulose zur Zeit der Schutzimpfung vorhanden war, obwohl die Tiere, wie ausdrücklich hervorgehoben sei, sich sonst in ihrem Verhalten nicht von ihren gesunden Altersgenossen

unterschieden, unmittelbar durch die Schutzimpfung verursacht sein. Es lehrt diese Erfahrung aufs neue, daß reagierende Tiere, namentlich wenn sie schon über 2 Monate alt sind, nach Möglichkeit von der Schutzimpfung auszuschließen sind, und daß man auf eine günstige Beeinflussung bereits vorhandener tuberkulöser Herde nicht immer rechnen kann.

Für die weitere kritische Beurteilung der übrigen Befunde sind noch 2 Fälle auszuschneiden, in denen die Schlachtung bereits 3 bzw. 4 Wochen nach Beendigung der Schutzimpfung erfolgte, so daß ein Rückschluß auf die Wirkung der Schutzimpfung wohl nicht angängig ist (Fall 22 und 23). In dem ersten Falle wurde Tuberkulose der Kehlganglymphdrüsen festgestellt, im zweiten Falle fehlten tuberkulöse Veränderungen ganz.

Es verbleiben somit insgesamt 17 Fälle, in denen die vorschriftsmäßig immunisierten Rinder eine längere Zeit hindurch der natürlichen Ansteckung ausgesetzt waren, ehe sie geschlachtet wurden. Die Untersuchung dieser 17 Fälle hat nun ergeben, daß 7mal (41,2 Proz.) tuberkulöse Veränderungen vorhanden waren, und zwar:

- 2mal generalisierte Tuberkulose (2 Schlachtungen: Fall 20 und 34)
- 2mal käsige tuberkulöse Bronchopneumonie mit Tuberkulose der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen (2 Schlachtungen: Fall 33 und 38)
- 1mal Lungen- und Brustfelltuberkulose, sowie umfangreiche Lebertuberkulose (1 Schlachtung: Fall 25)
- 1mal schwache Bauchfelltuberkulose (1 Schlachtung: Fall 21)
- 1mal Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose (1 Schlachtung: Fall 26);
in 10 Fällen (58,8 Proz.) fanden sich keine tuberkulösen Veränderungen vor (Fall 24, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 35, 36 und 37).

Von den 17 geschlachteten Rindern standen

2	im Alter von $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren (darunter 1 mit Tuberkulose behaftet)				
10	" " " $2\frac{1}{2}$ —3 " (" 5 " " ")				
2	" " " $3\frac{1}{2}$ —4 " (" 1 " " ")				
3	" " " $4\frac{1}{2}$ —5 $\frac{1}{2}$ " (" 0 " " ")				

Von besonderem Interesse sind zunächst die 2 Fälle von generalisierter Tuberkulose (No. 20 und 34). In beiden Fällen fand die erste Immunisierung im Alter von 2 bzw. $2\frac{1}{2}$ Monaten statt. Beide Tiere reagierten mit hohem, zwei Tage anhaltendem Fieber (Reaktionsgrad II). Es ist daher anzunehmen, daß beide Tiere zur Zeit der ersten Immunisierung bereits tuberkulöse Herderkrankungen aufwiesen. Die Immunisierung hat den tuberkulösen Prozeß nicht aufzuhalten vermocht. Eher liegt die Vermutung nahe, daß eine Beschleunigung des tuberkulösen Prozesses durch die Schutzimpfung bewirkt wurde.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse in dem einen der beiden Fälle von käsiger, tuberkulöser Bronchopneumonie mit Tuberkulose der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen, nämlich Fall No. 33. Auch hier folgte auf die erste Schutzimpfung, welche im Alter von $3\frac{1}{2}$ Monaten ausgeführt wurde, eine anhaltende starke Fieberreaktion (Reaktionsgrad III) und bei der zweiten 3 Monate später ausgeführten Schutzimpfung abermals eine starke Reaktion (Reaktionsgrad II), so daß mit großer Wahrscheinlichkeit auf das Vorhandensein einer Herderkrankung geschlossen werden kann. Von einer günstigen Beeinflussung des Krankheitsprozesses kann auch hier nicht die Rede sein.

Der Verdacht, daß möglicherweise schon zur Zeit der ersten Schutzimpfung eine, wenn auch geringgradige Herderkrankung zugegen war,

ist auch bei Fall 21 nicht ganz von der Hand zu weisen. Die erste Immunisierung fand im Alter von 6 Wochen statt. Die Reaktion war sowohl bei der ersten, als auch namentlich bei der zweiten Schutzimpfung deutlich ausgeprägt (Reaktionsgrad II). Die 5 Monate nach der zweiten Immunisierung ausgeführte Tuberkulinprobe fiel positiv aus. Die $2\frac{1}{4}$ Jahre nach Beendigung der Schutzimpfung ausgeführte Schlachtung ergab Bauchfelltuberkulose.

Anders liegen die Verhältnisse bei Fall 38. Hier erfolgte die erste Immunisierung bereits im Alter von 3 Wochen. Die Reaktion war unerheblich (Reaktionsgrad I) und fehlte bei der zweiten Schutzimpfung ganz (Reaktionsgrad 0). Eine 8 Monate nach der zweiten Schutzimpfung ausgeführte Tuberkulinprobe fiel negativ aus. Die $2\frac{1}{2}$ Jahre nach der zweiten Schutzimpfung vorgenommene Schlachtung ergab käsige tuberkulöse Bronchopneumonie mit Tuberkulose der bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen. Hier hat somit die vorschriftsmäßig ausgeführte Schutzimpfung die spätere Infektion sicher nicht zu verhindern vermocht.

Ganz ähnlich zu beurteilen ist Fall 26. Die erste Immunisierung fand im Alter von 6 Wochen statt (Reaktionsgrad 0). Auch bei der zweiten Schutzimpfung wurde Reaktionsgrad 0 festgestellt. Tuberkulinprobe 2 Monate nach Beendigung der Schutzimpfung negativ. Die 1 Jahr 4 Monate nach der zweiten Schutzimpfung ausgeführte Schlachtung ergab Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose. Die vorschriftsmäßig ausgeführte Schutzimpfung hat auch in diesem Falle die spätere Infektion nicht verhindert.

Das gänzliche Versagen der Schutzimpfung illustriert Fall 25. Hier fand die Schutzimpfung allerdings erst im Alter von 8 Monaten statt; aber das betreffende Rind war unmittelbar zuvor einer Tuberkulinprobe unterworfen und nicht reagierend befunden. Bei der ersten Schutzimpfung wurde Reaktionsgrad I, bei der zweiten Schutzimpfung Reaktionsgrad 0 festgestellt. Die 2 Jahre nach Beendigung der Schutzimpfung ausgeführte Schlachtung ergab Lungen- und Brustfelltuberkulose, sowie umfangreiche Lebertuberkulose.

Ueerblicken wir noch einmal die 17 durch Schlachtung kontrollierten Immunisierungsfälle, in denen die Tiere noch eine längere Zeit nach Beendigung der Schutzimpfung gelebt haben, so bleiben, selbst wenn wir in der rigorosesten Weise 4 Fälle (No. 20, 34, 33 und 21) ausscheiden, in denen der Verdacht besteht, daß bereits zur Zeit der ersten Schutzimpfung tuberkulöse Herderkrankungen vorhanden waren, zwei Fälle (No. 38 und 26) übrig, in denen ein Versagen der rechtzeitig und vorschriftsmäßig ausgeführten Schutzimpfung einwandsfrei auch durch die Sektion bestätigt ist, und ein dritter Fall (No. 25), in dem die bei einem 8 Monate alten, auf Tuberkulin nicht reagierenden Rinde ausgeführte Schutzimpfung ebenfalls völlig versagt hat.

Ziehen wir, um ein Gesamturteil aus den bisher während eines fünfjährigen Zeitraumes kontrollierten Obduktionen zu fällen, zum Vergleich auch die in der ersten Veröffentlichung mitgeteilten 19 Obduktionsbefunde heran, so verfügen wir zurzeit über 36 durch Sektion bzw. Schlachtung kontrollierte Fälle, in denen die nach dem v. Behringschen Verfahren immunisierten Rinder eine mehr oder minder lange Zeit der natürlichen Stallinfektion ausgesetzt waren, ehe sie zur Schlachtung bzw. Sektion

gelangten. Von diesen 36 Rindern wurden insgesamt 16 = 44,4 Proz. mit Tuberkulose in mehr oder minder ausgebreiteter Form behaftet gefunden, und zwar wurde festgestellt:

Generalisierte Tuberkulose in 7 Fällen,
Lungen- und Brustfelltuberkulose mit oder ohne Lebertuberkulose in 4 Fällen,
Bronchialdrüsen- bzw. Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose in 3 Fällen,
Mesenterialdrüsentuberkulose in 1 Fall,
Bauchfelltuberkulose in 1 Fall.

20 Rinder = 55,6 Proz. erwiesen sich frei von tuberkulösen Veränderungen.

Bei sorgfältiger Ausschaltung aller Fälle, bei denen auch nur der geringste Verdacht besteht, daß bereits zur Zeit der Schutzimpfung tuberkulöse Herderkrankungen vorhanden waren, verbleiben insgesamt 4 Fälle, in denen ein Versagen der rechtzeitig und vorschriftsmäßig ausgeführten Schutzimpfung einwandsfrei auch durch die Sektion bestätigt worden ist, und 2 Fälle, in denen die allerdings erst im Alter von 8 Monaten ausgeführte Schutzimpfung die auf Tuberkulin nicht reagierenden Rinder nicht vor einer schweren Tuberkuloseinfektion bewahrt hat.

Auch die Kontrolle der Obduktionsbefunde lehrt somit, daß die v. Behringsche Schutzimpfung für sich allein den Impflingen einen sicheren Schutz gegen spätere Tuberkuloseinfektionen in der Praxis nicht verleiht und auch vorhandene tuberkulöse Herderkrankungen nicht immer im Sinne einer Heilung günstig beeinflußt.

Schlußbetrachtung.

Auch die in den Jahren 1907 und 1908 mit dem v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfverfahren im Veterinärinstitut gesammelten Erfahrungen sprechen nicht dafür, daß es gelingt, mit Hilfe dieses Verfahrens allein die Rindertuberkulose in stark verseuchten Beständen wirksam zu bekämpfen.

Nachtrag über die im Veterinärinstitut ausgeführten Taurumanimpfungen.

Ich möchte diesen Bericht nicht schließen, ohne auch über die bisher im Veterinärinstitut in die Wege geleiteten Taurumanimpfungen nach Koch, Schütz, Neufeld und Miessner, die bekanntlich in der möglichst frühzeitig auszuführenden einmaligen intravenösen Einspritzung virulenter Menschentuberkelbacillen bestehen, eine kurze Uebersicht zu geben.

Insgesamt wurden auf 4 verschiedenen Gütern (den Versuchsgütern III, V, VI und VII) seit Frühjahr 1906 48 Taurumanimpfungen ausgeführt. Die verhältnismäßig kleine Zahl erklärt sich daraus, daß wir immer nur einen kleinen Teil der zu immunisierenden Kälber nach diesem Verfahren behandeln konnten und außerdem vielfach noch auf Schwierigkeiten bei den Besitzern stießen. Wir hatten im ganzen 2 Todesfälle im Anschluß an die Schutzimpfung zu verzeichnen. Der eine hätte sich vermeiden lassen, wenn wir die Impflinge auf Kälberpneumonie untersucht hätten. Ich habe über diesen Zwischenfall, dem auch ein mit Bovovaccin geimpftes Kalb zum Opfer fiel, bereits in meiner ersten Veröffentlichung (l. c., p. 587) ausführliche Mitteilung gemacht.

Der zweite Fall betrifft ein 2 Monate altes, auf Tuberkulin positiv reagierendes Rind, welches bei der Schutzimpfung keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen ließ. Die Körpertemperatur betrug $39,6^{\circ}\text{C}$ und hielt sich auch in den folgenden Tagen fast auf gleicher Höhe, ohne daß vom Besitzer sonstige bedrohliche Erscheinungen wahrgenommen wurden. 5 Tage nach der Impfung hörte das Tier gänzlich auf zu fressen, es trat heftige Atemnot auf, und das Tier verendete, ohne daß eine neue Untersuchung von uns ausgeführt werden konnte, knapp 6 Tage nach der Schutzimpfung. Die im Veterinärinstitut ausgeführte Sektion ergab: Diffuse Verdickung der Lungenpleura, namentlich an den Rippenflächen der Hauptlappen; akute lobuläre Pneumonie in beiden Vorderlappen und multiple größere und kleinere bis kleinste graue Hepatisationsherde auch in den übrigen Teilen der Lunge, ausgebreitetes interstitielles Lungenemphysem; außerdem einige erbsengroße, graugelbe, zum Teil verkalkte Tuberkel in den etwa daumengroßen Mediastinaldrüsen. Tuberkelbacillen konnten in den Abstrichen von der Lunge nicht nachgewiesen werden. Die mikroskopische Untersuchung der Lunge bestätigte die Diagnose: Alte, noch nicht abgeheilte Pleuritis, frische Pneumonie (Kälberpneumonie). Auf sofortige Anfrage beim Besitzer gab dieser zu, daß er vor etwa 3 Monaten ein paar Kälber verloren habe, nur das letzte sei tierärztlich untersucht. Es sei eine „leichte Lungenentzündung“ festgestellt worden. Keins der übrigen geimpften Kälber (im ganzen wurden 6 geimpft und 1 als Kontrolltier gelassen) hat irgendwelche Krankheitserscheinungen nach der Impfung gezeigt. Auch sind später Erkrankungen an Kälberpneumonie nicht wieder vorgekommen.

Von den 48 schutzgeimpften Rindern sind bis jetzt 21 einer Tuberkulinprobe unterworfen. Von diesen reagierten 10 = 47,6 Proz. Unter den mit Tuberkulin geprüften Rindern befinden sich 4, die auf eine vor Ausführung der Schutzimpfung vorgenommene Tuberkulinprobe nicht reagiert hatten. Von diesen reagierten bei der $1\frac{1}{4}$ bzw. $2\frac{1}{4}$ Jahre nach der Schutzimpfung ausgeführten erneuten Tuberkulinprobe 2 = 50 Proz. Außerdem sind noch 2 Rinder zu nennen, die zwar nicht vor Ausführung der Schutzimpfung mit Tuberkulin geprüft waren, aber bei der 5 bzw. 8 Monate nach der Schutzimpfung vorgenommenen ersten Tuberkulinprobe keine Reaktion zeigten, und trotzdem $\frac{3}{4}$ bzw. 3 Jahre später eine typische Reaktion erkennen ließen.

Ein mit Tauruman immunisiertes Rind wurde geschlachtet und mit generalisierter Tuberkulose behaftet gefunden (Fall 41). Dasselbe war vor Ausführung der Schutzimpfung mit Tuberkulin geprüft und hatte keine Reaktion gezeigt. Da das Kalb sich nicht nach Wunsch entwickelte, wurde es 11 Monate nach der Schutzimpfung geschlachtet und in der bereits erwähnten Weise mit Tuberkulose behaftet gefunden.

Wenn auch die verhältnismäßig kleine Zahl der mit Tauruman angestellten Versuche ein abschließendes Urteil über dieses Impfverfahren nicht gestattet, so zeigten die oben mitgeteilten Erfahrungen doch, daß auch dieser Impfstoff den Rindern einen ausreichenden Schutz gegenüber der natürlichen Tuberkuloseansteckung nicht verleiht und sich auch sonst wie der v. Behringsche Impfstoff verhält.

Seit Frühjahr 1908 haben wir auch das Heymanssche und das Dresdner Schutzimpfverfahren in der Praxis angewandt. Ueber die mit diesen Verfahren erzielten Erfolge soll später berichtet werden. Eine eingehende Besprechung der wissenschaftlichen Unterlagen dieser Impfverfahren habe ich im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. No. 9/10 u. Bd. 44. No. 13/14 veröffentlicht.

Schließlich sei noch erwähnt, daß wir auch versucht haben, die bei den Impfungen nach Anwendung der verschiedenen Schutzimpfungen eventuell festzustellenden Schwankungen des opsonischen Index als Maßstab für die Wirkung der einzelnen Methoden zu benutzen, doch sind die zu diesem Zwecke bis jetzt angestellten Versuche ergebnislos verlaufen.

Anhang.

A. Uebersicht über die in der Praxis ausgeführten Schutzimpfungen.

Versuchsgut I.

Zuchtwirtschaft mit Molkereibetrieb in der Altmark; Weidegang von April bis Oktober; kein Zukauf.

Schutzimpfung seit Januar 1904, nur mit Bovovaccin; keine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung, keine besonderen prophylaktisch-hygienschen Maßnahmen. Letzte Schutzimpfung Oktober 1908; letzte Tuberkulinprobe Januar 1909.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren 42 über 6 Monate alte Rinder (sämtlich Ostfriesen) vorhanden, von denen 26 = 61,9 Proz. auf Tuberkulin reagierten.

Versuchsgut II.

Zuchtwirtschaft in der Altmark ohne Molkereibetrieb, dem Versuchsgut I benachbart und auch sonst die gleichen wirtschaftlichen Verhältnisse bietend.

Schutzimpfung seit Januar 1904, nur mit Bovovaccin; keine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung, keine besonderen prophylaktisch-hygienschen Maßnahmen. Letzte Schutzimpfung Oktober 1908; letzte Tuberkulinprobe Januar 1909.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren 25 über 6 Monate alte Rinder (sämtlich Ostfriesen) vorhanden, von denen 15 = 60 Proz. auf Tuberkulin reagierten.

Auf beiden Gütern wurden 5 Jahre hindurch sämtliche für die Aufzucht bestimmten Kälber konsequent mit Bovovaccin genau nach v. Behrings Vorschrift immunisiert. Zur Erlangung größerer Vergleichswerte sind die Zahlen für beide Güter zusammengezogen.

Insgesamt wurden auf beiden Versuchsgütern in den 5 Jahren 114 Kälber (Versuchsgut I: 73, Versuchsgut II: 41) immunisiert, und zwar fand die erste Schutzimpfung statt

bei 32 Tieren im Alter bis zu 1 Monat	
„ 46 „ „ „ „ „ 2 Monaten	
„ 30 „ „ „ „ „ 3 „	
„ 4 „ „ „ „ „ 4 „	
„ 2 „ „ „ „ „ 6 „	

6 Kälber starben vor Ausführung der zweiten, bekanntlich 3 Monate nach der ersten auszuführenden Impfung (2 an Lungenentzündung, 3 infolge von Darmerkrankungen, 1 an Milzbrand) und 2 Kälber wurden vor Beendigung der Schutzimpfung geschlachtet bzw. verkauft, so daß bei insgesamt 106 Rindern die Immunisierung vorschriftsmäßig zu Ende geführt werden konnte.

Im Januar 1909 (5 Jahre nach Beginn der Schutzimpfungen) waren von diesen 106 Rindern noch 62 auf den beiden Gütern vorhanden (auf Versuchsgut I: 44, auf Versuchsgut II: 18), 35 Rinder waren teils zur Zucht, teils auch als fett an den Fleischer verkauft. 9 Rinder waren von den Besitzern selbst geschlachtet, darunter 4 wegen ausgesprochenen Tuberkuloseverdachts. Bei 8 Rindern wurde durch die Schlachtung Tuberkulose, zum Teil in weit vorgeschrittenem Stadium, festgestellt, 1 Rind erwies sich bei der Schlachtung frei von Tuberkulose.

Am 22. Jan. 1909 wurden die noch vorhandenen vorschriftsmäßig immunisierten Rinder mit Ausnahme von 21 Jungrindern (meist männliche

Tiere, die zum Verkauf gebracht werden sollten), also insgesamt 41 Rinder, der Tuberkulinprobe unterworfen. Es reagierten 19 = 46,3 Proz.

Auf die verschiedenen Altersklassen verteilen sich die reagierenden Tiere, wie folgt:

Von 12 Rindern im Alter von	4—5 Jahren	reagierten	7 = 58,3 Proz.
" 9 " " " "	" 2 $\frac{1}{2}$ —3	" "	5 = 55,6 "
" 11 " " " "	" 1 $\frac{1}{2}$ —2	" "	3 = 36,4 "
" 9 " " " "	" 1 $\frac{1}{2}$ —1	" "	3 = 33,3 "

Bei 30 Rindern waren mindestens 1 Jahr nach der zweiten Immunisierung verflossen. Unter ihnen befanden sich 15 = 50 Proz. reagierende Tiere. Bei 11 Rindern waren erst 3—10 Monate nach der zweiten Immunisierung verflossen, unter ihnen befanden sich 4 = 36,4 Proz. reagierende Tiere.

Von den älteren, nicht immunisierten Rindern befanden sich am 22. Jan. 1909 noch 19 Rinder im Alter von 5—9 Jahren auf beiden Gütern vor, welche ebenfalls einer Tuberkulinprobe unterworfen wurden. Es reagierten 12 = 63,2 Proz.

Legen wir unserer Betrachtung den gesamten jeweilig vorhandenen Viehbestand zugrunde, so begannen wir unsere Versuche bei einem Gesamtbestande von 67 über 6 Monate alten Rindern mit 41 = 61,2 Proz. reagierenden Tieren, hatten nach 3-jähriger konsequenter Durchführung der Schutzimpfung bei einem Bestand von 65 Rindern 36 = 55,4 Proz. reagierende Tiere und endlich nach 5-jähriger Schutzimpfung bei einem Bestande von 60 Rindern 31 = 51,7 Proz. reagierende Tiere.

Sehr lehrreich ist auch ein Vergleich des Verhaltens der im Jahre 1907 und 1909, also zweimal mit einer Zwischenpause von 2 Jahren, mit Tuberkulin geprüften immunisierten Rinder. Insgesamt waren auf beiden Gütern 21 Rinder vorhanden, welche bereits am 12. Febr. 1907 der Tuberkulinprobe unterworfen waren. Damals hatten von diesen 21 Rindern nur 6 = 28,6 Proz. reagiert, während bei der Tuberkulinprobe am 22. Jan. 1909 11 = 52,4 Proz. reagierend befunden wurden. Berücksichtigt man nur die 15 Rinder, welche am 12. Febr. 1907 nicht reagiert hatten, so reagierten von diesen am 22. Jan. 1909 6 = 40 Proz. Von den 6 am 12. Febr. 1909 reagierend befundenen Rindern hatte nur ein einziges seine Reaktionsfähigkeit am 21. Jan. 1909 eingebüßt; die übrigen 6 reagierten wiederum positiv.

Da von den Besitzern dieser beiden Güter bindende Zusagen über die Anwendung prophylaktisch-hygienischer Maßnahmen nicht zu erlangen waren, und angesichts der geringen Erfolge der Aufwand seitens des Instituts an Zeit und Geld zu groß erschien, wurden die Versuche nach der letzten Tuberkulinprobe auf beiden Gütern abgebrochen.

Versuchsgut III.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Nachzucht und beschränktem Zukauf; Weidegang nur für das Jungvieh.

Schutzimpfung seit Mai 1904, anfangs nur mit Bovovaccin, seit 1906 auch mit Tauruman; keine besonderen prophylaktisch-hygienischen Maßnahmen. Bis Ende 1906 wurde nur ausnahmsweise bei älteren Rindern eine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung ausgeführt; seit Anfang 1907 wird jedes zu immunisierende Tier durch subkutane Tuberkulineinspritzung (0,3–0,5 ccm) vorgeprüft.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren 45 über 1 Jahr alte Rinder (Oldenburger und Ostfriesen) auf dem Gute vorhanden. Von diesen reagierten 36 = 80 Proz.

In der Zeit von Mai 1904 bis September 1906 wurden 40 Rinder mit Bovovaccin immunisiert. Bei der am 9. Nov. 1906 bzw. 14. Dez. 1906 vorgenommenen ersten Tuberkulinprobe reagierten von den 37 noch vorhandenen Rindern $16 = 43,2$ Proz. Von diesen waren im Juli 1909 noch 19 (8 reagierende und 11 nicht reagierende) vorhanden. Von diesen reagierten bei der zweiten Tuberkulinprobe am 15. Juli 1909 $17 = 89,5$ Proz., d. h. sämtliche bei der ersten Tuberkulinprobe reagierenden und von den 11 nicht reagierenden 9. Von diesen 19 zweimal mit Tuberkulin geprüften immunisierten Rindern standen zur Zeit der zweiten Tuberkulinprobe

5 Rinder im Alter von $3-3\frac{1}{2}$ Jahren
13 " " " " $4-4\frac{1}{2}$ "
1 Rind " " " $5\frac{1}{2}$ "

Von den übrigen 18 immunisierten Rindern, welche seit der ersten Tuberkulinprobe verkauft waren, konnten nur 5 bei der Schlachtung genau tierärztlich untersucht werden. Eins war wegen hochgradiger vorgeschrittener Tuberkulose vom Veterinärinstitut angekauft und daselbst an generalisierter Tuberkulose verendet (Fall 7 der Obduktionsbefunde in der ersten Veröffentlichung). Zwei weitere Rinder wurden bei der Schlachtung mit tuberkulösen Veränderungen geringeren Grades behaftet gefunden (Fälle 25 und 26, Anhang) und eins erwies sich bei der Untersuchung tuberkulosefrei (Fall 24, Anhang).

Zählen wir die durch die zweite Tuberkulinprobe und durch die Schlachtung ermittelten Tuberkulosefälle zusammen, so erwiesen sich von insgesamt 23 immunisierten Rindern, von denen im November bzw. Dezember 1906 $10 = 43,5$ Proz. reagiert hatten, bei der längstens nach Ablauf von $2\frac{1}{2}$ Jahren vorgenommenen zweiten Untersuchung (Tuberkulinprobe oder Schlachtung) $20 = 87$ Proz. tuberkulös, so daß die Verseuchungsziffer sich im Verlaufe von ca. $2\frac{1}{2}$ Jahren genau verdoppelt hat.

Gleichzeitig mit den immunisierten Rindern wurden auch die 26 nicht immunisierten Rinder einer Tuberkulinprobe unterworfen, die teils vom alten Bestande noch übrig geblieben, teils durch Ankauf hinzugekommen waren. Von diesen reagierten $22 = 84,6$ Proz.

Ein im März 1906 mit Tauruman ohne vorherige Tuberkulinprobe immunisiertes Rind, welches bei der ersten Tuberkulinprobe am 9. Nov. 1906 keine Reaktion gezeigt hatte, reagierte typisch bei der zweiten Probe am 15. Juli 1909.

Die Schutzimpfungen auf diesem Gute werden fortgesetzt, und zwar werden, wie schon erwähnt, seit Beginn des Jahres 1907 sämtliche zur Aufzucht bestimmten Rinder einer Tuberkulinprobe unterworfen. Ein Teil wird sodann nach der alten v. Behringschen Methode mit Bovovaccin, ein anderer Teil mit Tauruman immunisiert und ein Teil zur Kontrolle unbehandelt gelassen. Die mit Bovovaccin immunisierten Rinder werden ferner alljährlich einer Nachimpfung nach der Schilfsäckchenmethode von Prof. Heymans-Gent unterworfen¹⁾. Auch hat sich der Besitzer entschlossen, in Zukunft strengere prophylaktisch-hygienische Maßnahmen in Anwendung zu bringen.

Versuchsgut IV.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Nachzucht; Zukauf nur vereinzelt; dauernde Stallhaltung.

Schutzimpfung seit Mai 1904, nur mit Bovovaccin, meist ohne vor-

1) Ueber diese Methode vergleiche die ausführliche Mitteilung im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 42. No. 9/10.

herige Tuberkulinprobe; nach Möglichkeit werden offensichtlich tuberkulöse Tiere ausgemerzt; die Kälber werden möglichst nur mit der Milch gesunder Kühe ernährt.

Zu Beginn der Schutzimpfung (Mai 1904) waren 18 Rinder (Ostfriesen) auf dem Gute vorhanden, von denen 7 = 38,9 Proz. reagierten.

In der Zeit von Mai 1904 bis März 1908 wurden insgesamt 29 Rinder mit Bovovaccin immunisiert. Von diesen wurde 1 zur Zucht und 8 zum Schlachten verkauft. Letztere sind nach der Schlachtung eingehend tierärztlich untersucht worden, wobei sich 7 Rinder völlig frei von tuberkulösen Veränderungen und 1 mit Lungentuberkulose und Tuberkulose des Brustbeins behaftet erwiesen. Letzteres war alsbald nach der im Frühjahr 1907 stattgefundenen ersten Tuberkulinprobe als einziges reagierendes Rind unter dem Nachwuchse zur schnelleren Tilgung der Tuberkulose vom Veterinärinstitut angekauft. Die übrigen 20 Rinder wurden am 8. Juli 1909 einer Tuberkulinprobe unterworfen, wobei nur 1 ca. 3 Jahre altes Rind = 5 Proz. reagierte. Von diesen 20 mit Tuberkulin geprüften immunisierten Rindern standen

4	Tiere	im	Alter	von	1½—2	Jahren
6	"	"	"	"	2½—3	"
7	"	"	"	"	3½—4	"
3	"	"	"	"	5½—7	"

Sämtliche 10 Rinder, welche bereits bei der im Frühjahr 1907 vorgenommenen ersten Tuberkulinprobe nicht reagiert hatten, reagierten auch bei dieser 2½ Jahre später vorgenommenen Tuberkulinprobe nicht.

Gleichzeitig mit den immunisierten Rindern wurden auch die noch vorhandenen 5 Kühe des alten, nicht immunisierten Bestandes mit Tuberkulin geprüft. Sie reagierten sämtlich. Der Prozentsatz der reagierenden Tiere betrug somit am 8. Juli 1909 bei einer Gesamtzahl von 25 über 1½ Jahre alten Rindern 24 Proz., wobei jedoch zu beachten ist, daß die Mehrzahl der reagierenden Tiere (d. h. von 6 überhaupt reagierenden Tieren 5) nicht immunisierte Rinder sind.

Die Schutzimpfung wird auf diesem Gute genau unter den gleichen Bedingungen wie bisher weitergeführt.

Versuchsgut V.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Grimma) mit eigener Aufzucht und Zukauf; für das Jungvieh sind erst in letzter Zeit Tummelplätze angelegt.

Schutzimpfung seit März 1905, anfangs nur mit Bovovaccin, seit Juni 1906 auch mit Tauruman; anfangs keine besonderen prophylaktisch-hygienischen Maßnahmen, seit Anfang 1902 hat der Besitzer begonnen, offensichtlich tuberkulöse Tiere aus seinem Bestande nach Möglichkeit auszumerzen und den Kälbern Milch von notorisch gesunden Tieren zu verabreichen. Bis Ende 1906 wurde keine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung ausgeführt; seit Anfang 1907 wird jedes zu impfende Tier durch subkutane Tuberkulineinspritzung (0,3—0,5 ccm) vorgeprüft.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren 37 über 1 Jahr alte Rinder (Ostpreußen, Ostfriesen) vorhanden, von diesen reagierten 36 = 93,3 Proz.

In der Zeit von März 1905 bis November 1906 wurden 17 Rinder mit Bovovaccin immunisiert. Bei der ersten Tuberkulinprobe vom 12. Nov. 1906 waren von diesen noch 14 Rinder vorhanden, von denen 8 = 57,1 Proz. reagierten, 6 = 42,9 Proz. zeigten keine Reaktion. Bis Frühjahr 1909 wurden von diesen Rindern insgesamt 9 (5 reagierende und 4 nicht reagierende) geschlachtet und genau tierärztlich untersucht. Von den 5 re-

agierenden Rindern erwiesen sich 4 (Fälle No. 12 und No. 16 der früheren Obduktionsbefunde, Fälle No. 33 und No. 34 der Obduktionsbefunde im Anhang) mit Tuberkulose behaftet, darunter 1 mit generalisierter Tuberkulose; bei einem reagierenden Rinde wurden tuberkulöse Veränderungen bei der Schlachtung nicht ermittelt (Fall 32); die 4 nicht reagierenden Tiere erwiesen sich sämtlich frei von Tuberkulose (Fälle No. 31, 35, 36, 37). Insgesamt wurden demnach von den 9 geschlachteten Tieren $4 = 44,4$ Proz. tuberkulös und $5 = 55,6$ Proz. tuberkulosefrei befunden. Die Schlachtung erfolgte in 2 Fällen $\frac{1}{2}$ —1 Jahr, in 3 Fällen $1\frac{3}{4}$ —2 Jahre, in 4 Fällen $2\frac{1}{4}$ —3 Jahre nach der letzten Immunisierung. Die noch verbleibenden 5 Rinder (3 reagierende und 2 nicht reagierende) wurden am 12. Juli 1909 einer zweiten Tuberkulinprobe unterworfen. Hierbei zeigten $4 = 80$ Proz. (3, die schon am 12. Nov. 1906 reagiert hatten, und 1 damals nicht reagierendes) eine positive Reaktion; ein einziges, welches schon am 12. Nov. 1906 nicht reagiert hatte, zeigte wiederum keine Reaktion. Zählen wir die teils 1907, teils 1908 durch Schlachtung ermittelten und die im Juli 1909 mit Hilfe der Tuberkulinprobe festgestellten Tuberkulosefälle zusammen, so erwiesen sich von den 14 im November 1906 vorhandenen immunisierten Rindern auch bei der späteren, längstens nach $2\frac{1}{2}$ Jahren vorgenommenen Untersuchung $8 = 57,1$ Proz. tuberkulös, so daß die Verseuchungsziffer vom November 1906 in den folgenden $2\frac{1}{2}$ Jahren keine Zunahme erkennen läßt.

Zwei im Juni 1906 mit Tauruman ohne vorherige Tuberkulinprobe immunisierte Rinder zeigten am 12. Juli 1909 eine positive Reaktion.

Die Schutzimpfung wird auf diesem Gute fortgesetzt, und zwar werden, wie schon erwähnt, seit Beginn des Jahres 1907 sämtliche zur Aufzucht bestimmten Rinder einer Tuberkulinprobe unterworfen. Ein Teil wird sodann nach der alten v. Behringschen Methode mit Bovovaccin, ein anderer Teil mit Tauruman immunisiert und ein möglichst großer Teil zur Kontrolle unbehandelt gelassen.

24 Rinder, welche in dieser Weise bereits im Jahre 1907 zu einem Versuche vereinigt wurden, sind am 12. Juli 1909 einer zweiten Tuberkulinprobe unterworfen, deren Ergebnis folgendermaßen ausfiel:

Von den 13 Kontrolltieren, unter denen sich zu Beginn des Versuches $8 = 61,5$ Proz. reagierende befanden, waren nach 2 Jahren noch 9 vorhanden, die sämtlich reagierten. 4 waren inzwischen geschlachtet. Bei dreien konnte der Befund genau festgestellt werden; es wurde zweimal geringgradige Lungen- bzw. Mediastinaldrüsentuberkulose und einmal Freisein von tuberkulösen Veränderungen ermittelt. Im letzteren Falle hatte das Rind auch bei der ersten Tuberkulinprobe nicht reagiert.

Die 9 mit Bovovaccin immunisierten Rinder, unter denen sich zu Beginn des Versuches $5 = 55,6$ Proz. reagierende befanden, waren nach 2 Jahren noch sämtlich vorhanden. Von ihnen reagierten wiederum $5 = 55,6$ Proz.; darunter befinden sich allerdings 2, die zu Beginn des Versuchs nicht reagiert hatten, während 2 früher reagierende jetzt keine Reaktion erkennen ließen.

Die 3 mit Tauruman immunisierten Rinder endlich, unter denen sich $2 = 66,7$ Proz. reagierende befanden, reagierten 2 Jahre später sämtlich.

Zugleich mit den geimpften Rindern wurde auch eine Tuberkulinprobe bei den 28 nicht immunisierten Rindern ausgeführt, die teils noch vom alten Bestande übrig geblieben, teils durch Ankauf hinzugekommen waren. Es reagierten von diesen $23 = 82,1$ Proz.

Seit Beginn des Jahres 1908 schließen wir an die mit Bovovaccin oder Tauruman erfolgende erste Immunisierung nach Jahresfrist die Schutzimpfung nach Prof. Heymans-Gent (Schilfsäckchenmethode) an, die dann alljährlich wiederholt werden soll. Auch hat der Besitzer angefangen, mit Rücksicht auf den hohen Prozentsatz der zur Zeit der Schutzimpfung mit Tuberkulose behafteten Kälber besondere prophylaktisch-hygienische Maßnahmen durchzuführen.

Versuchsgut VI.

Milchwirtschaft im Königreich Sachsen (Amtshauptmannschaft Borna) mit eigener Nachzucht und Zukauf; dauernde Stallhaltung; Tummelplatz für das Jungvieh.

Schutzimpfung seit April 1905, anfangs nur mit Bovovaccin, seit Mai 1906 auch mit Tauruman; keine besonderen prophylaktisch-hygienischen Maßnahmen. Bis Ende 1906 wurde keine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung ausgeführt; seit Anfang 1907 wird jedes zu impfende Tier durch subkutane Tuberkulineinspritzung (0,3—0,5 ccm) vorgeprüft.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren 47 über $\frac{1}{2}$ Jahre alte Rinder (Oldenburger, Ostfriesen) auf dem Gut vorhanden, die sämtlich auf Tuberkulin reagierten.

Von 22 schutzgeimpften Rindern, welche am 7. Nov. 1906 einer Tuberkulinprobe unterworfen wurden, reagierten 11 = 50 Proz. Zieht man nur die 7 $1\frac{1}{2}$ —2 Jahre alten Tiere zum Vergleich heran, so betrug der Prozentsatz sogar 71,4. Trotz dieses ungünstigen Ergebnisses war der Besitzer, der in allen den Kuhstall wie überhaupt seine ganze Wirtschaft betreffenden Dingen auf peinlichste Ordnung und Sauberkeit hält und glaubte, mit diesen Maßnahmen allein auch die Tuberkulose bezwingen zu können, nicht dazu zu bewegen, besondere prophylaktisch-hygienische Maßnahmen, insbesondere die Ernährung der Kälber mit gekochter Milch oder mit der Milch bestimmter, von uns näher zu bezeichnender Kühe einzuführen. Als daher im Februar 1907 die zur Schutzimpfung präsentierten 5 Kälber sämtlich bei der Tuberkulinprobe reagierten, haben wir die Versuche zunächst abgebrochen. Sie sind nach Jahresfrist wieder aufgenommen, jedoch wird nunmehr ausschließlich nach Prof. Heymans (Schilfsäckchenmethode) immunisiert.

Versuchsgut VII.

Milchwirtschaft im Kgr. Sachsen (Amtshauptmannschaft Leipzig) mit eigener Nachzucht; dauernde Stallhaltung; Weidegang nur für das Jungvieh, welches auf einem Vorwerke aufgezogen wird.

Schutzimpfung seit April 1905; keine besonderen prophylaktisch-hygienischen Maßnahmen, anfangs nur mit Bovovaccin, seit Juni 1906 auch mit Tauruman. Bis Ende 1906 wurde keine Tuberkulinprobe vor der Schutzimpfung ausgeführt; seit Anfang 1907 wurde jedes zu immunisierende Tier durch subkutane Tuberkulineinspritzung (0,3—0,5 ccm) vorgeprüft. Letzte Schutzimpfung Juli 1908, letzte Tuberkulinprobe November 1908.

Zu Beginn der Schutzimpfung waren im gemeinsamen Kuhstalle des Hauptgutes 79 Rinder über 3 Jahre vorhanden. Von diesen reagierten 77 = 97,5 Proz.

In der Zeit von April 1905 bis September 1906 wurden insgesamt 31 Rinder mit Bovovaccin immunisiert. Bei der am 8. Nov. 1906 vorgenommenen Tuberkulinprobe reagierten von den noch vorhandenen 16 insgesamt 5 = 27,8 Proz. Leider konnte eine zweite Tuberkulinprobe der später in den Kuhstall übergeführten Rinder nicht vorgenommen

werden. Ein im November 1906 nicht reagierendes immunisiertes Rind wurde später zum Schlachten verkauft und bei der tierärztlichen Untersuchung mit ausgebreiteter Lungentuberkulose behaftet gefunden (Fall 38).

Wie schon erwähnt, wurden seit Beginn des Jahres 1907 sämtliche zur Aufzucht bestimmte Rinder einer Tuberkulinprobe unterworfen. Ein Teil wurde nach der v. Behringschen Methode mit Bovovaccin, ein Teil mit Tauruman immunisiert, und ein Teil unbehandelt gelassen. Von den in dieser Weise vorbereiteten, aus dem Jahre 1907 stammenden Rindern wurden im November 1908 die noch vorhandenen einer Tuberkulinprobe unterworfen. Insgesamt kamen für diesen Versuch 33 Rinder im Alter von 1–2 Jahren in Betracht, von denen 11 mit Bovovaccin, 5 mit Tauruman immunisiert und 17 unbehandelt gelassen waren. Von den 17 unbehandelten Tieren reagierten vor Beginn des Versuches 11 = 64,7 Proz., im November 1908 13 = 76,5 Proz.; von den 11 mit Bovovaccin immunisierten vor Ausführung der Schutzimpfung 5 = 45,5 Proz., im November 1908 6 = 54,5 Proz.; von den 5 mit Tauruman immunisierten vor Ausführung der Schutzimpfung 2 = 40 Proz., im November 1908 wiederum 2 = 40 Proz.

Ansaulicher noch wird die Wirkung der Schutzimpfung illustriert, wenn wir ausschließlicl die zum Beginn des Versuches reaktionsfrei befundenen Rinder berücksichtigen. Von den 6 unbehandelt gelassenen, nicht reagierenden Rindern reagierten im November 1908 4 = 66,7 Proz., während von den 9 immunisierten, nicht reagierenden Rindern 3 = 31,3 Proz., reagierten (von 6 mit Bovovaccin immunisierten 1 = 16,7 Proz., von 3 mit Tauruman immunisierten 2 = 66,7 Proz.). Interessant ist weiterhin die Feststellung, daß von den 11 ursprünglich reagierenden, unbehandelten Rindern im November 1908 2 = 18,2 Proz., und von den 7 immunisierten 2 = 28,6 Proz. keine Reaktion mehr zeigten (von 5 mit Bovovaccin behandelten 0, von 2 mit Tauruman behandelten 2).

Da die Einführung prophylaktisch-hygienischer Maßnahmen ebenso wie die von unserer Seite gewünschte tierärztliche Kontrolle der Schlachtungen auf Schwierigkeiten stieß, wurden die Versuche nach der letzten Tuberkulinprobe abgebrochen.

B. Uebersicht

über weitere bei verendeten oder geschlachteten immunisierten Rindern ermittelten Obduktionsbefunde¹⁾.

Versuchsgut I u. II (4 Schlachtungen).

Fall 20: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 57), am 25. März 1905 im Alter von 2 Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 24. April 1905 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 8. Febr. 1906 und 12. Febr. 1907 positiv; vom Veterinärinstitut angekauft und am 20. Dez. 1907 im Alter von 3 Jahren auf dem Schlachthofe in Leipzig geschlachtet.

Sektionsergebnis: Generalisierte Tuberkulose, ausgebreitete Knochen- und Gelenktuberkulose; Fleisch im gekochten Zustande verwertet.

Fall 21: Männliches Rind (Ohrmarke No. 196) am 26. Mai 1906 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 15. Sept. 1906 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am

1) Die hier mitgeteilten Fälle reihen sich an Fall 19 der ersten Veröffentlichung (Centralbl. f. Bakteriöl. etc. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 604) an.

12. Febr. 1907 positiv; am 27. Dez. 1908 im Alter von $2\frac{1}{4}$ Jahren geschlachtet.

Sektionsergebnis: Schwache Bauchfelltuberkulose.

Fall 22: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 273), am 21. März 1908 im Alter von 14 Tagen zum ersten Male, am 26. Juni 1908 zum zweiten Male schutzgeimpft (Reaktion nicht festgestellt); am 13. Juli 1908 im Alter von 4 Monaten vom Besitzer geschlachtet.

Sektionsergebnis: Tuberkulose der Kehlgangslymphdrüsen.

Fall 23: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 283), am 26. Juni 1908 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male, am 16. Okt. 1908 zum zweiten Male schutzgeimpft (Reaktion nicht festgestellt); am 12. Nov. 1908 im Alter von 6 Monaten vom Besitzer geschlachtet.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Versuchsgut III (3 Schlachtungen).

Fall 24: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 132), am 9. Sept. 1905 im Alter von 2 Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 6. Dez. 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Dez. 1906 negativ, am 5. März 1909 im Alter von $3\frac{3}{4}$ Jahren wegen Schlundverstopfung notgeschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 25: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 161), am 18. Nov. 1905 mit Tuberkulin geprüft, keine Reaktion; am 6. Dez. 1905 im Alter von 8 Monaten zum ersten Male (Reaktion I), am 15. März 1906 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. XII. 1906 positiv; am 3. April 1908 im Alter von 3 Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Lungen- und Brustfelltuberkulose, umfangreiche Lebertuberkulose.

Fall 26: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 212), am 1. Juni 1906 im Alter von 6 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 12. Nov. 1906 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 9. Nov. 1906 negativ; am 23. Jan. 1908 im Alter von $1\frac{3}{4}$ Jahren auf dem Schlachthofe in Leipzig geschlachtet, weil es in der Entwicklung zurückblieb und gelegentlich nach dem Fressen eine abnorme Auftreibung des Hinterleibes zeigte.

Sektionsergebnis: Ausgedehnte Bronchial- und Mediastinaltuberkulose.

Versuchsgut IV (4 Schlachtungen).

Fall 27: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 28), am 31. Mai 1904 mit Tuberkulin geprüft, keine Reaktion; am 14. Juni 1904 im Alter von $1\frac{1}{2}$ Jahren zum ersten Male (Reaktion 0), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Nov. 1906 und am 20. Febr. 1907 negativ; am 13. Mai 1908 im Alter von $5\frac{1}{2}$ Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 28: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 29), am 31. Mai 1904 mit Tuberkulin geprüft (keine Reaktion); am 14. Juni 1904 im Alter von 1 Jahr zum ersten Male (Reaktion 0), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Nov. 1906 und am 20. Febr. 1907 negativ; am 14. Okt. 1907 im Alter von $4\frac{1}{2}$ Jahren auf dem Schlachthofe in Leipzig geschlachtet.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 29: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 34), am 14. Juni 1904

im Alter von 2 Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 19. Okt. 1904 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Nov. 1906 und am 20. Febr. 1907 negativ; am 17. März 1909 im Alter von 5 Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 30: Männliches Rind (Ohrmarke No. 162), am 15. Febr. 1906 im Alter von 2 Monaten zum ersten Male (Reaktion 0), am 6. Juni 1906 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 14. Nov. 1908 und am 20. Febr. 1907 negativ; am 26. Okt. 1908 im Alter von $2\frac{3}{4}$ Jahren auf dem Schlachthofe in Leipzig geschlachtet.

Sektionsbefund: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Versuchsgut V (7 Schlachtungen).

Fall 31: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 47), am 15. März 1905 im Alter von $4\frac{1}{2}$ Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 negativ; am 25. Sept. 1907 im Alter von $2\frac{3}{4}$ Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 32: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 50), am 15. März 1905 im Alter von $3\frac{1}{2}$ Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 21. Mai 1905 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 positiv; Mitte Mai 1907 im Alter von $2\frac{1}{2}$ Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 33: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 51), am 15. März 1905 im Alter von $3\frac{1}{2}$ Monaten zum ersten Male (Reaktion III), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 positiv; am 9. Juli 1908 im Alter von $3\frac{1}{2}$ Jahren geschlachtet, von uns untersucht.

Sektionsergebnis: Käsig tuberkulöse Bronchopneumonie in beiden Vorderlappen, Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose.

Fall 34: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 53), am 15. März 1905 im Alter von $2\frac{1}{2}$ Monaten zum ersten Male (Reaktion II), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 positiv; am 27. März 1908 im Alter von $3\frac{1}{4}$ Jahren geschlachtet, von uns untersucht.

Sektionsergebnis: Generalisierte Tuberkulose, Fleisch im gekochten Zustande verwendet.

Fall 35: Männliches Rind (Ohrmarke No. 54), am 15. März 1905 im Alter von 1 Monat zum ersten Male (Reaktion I), am 21. Juni 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 12. Nov. 1906 negativ; am 28. Nov. 1907 im Alter von $2\frac{3}{4}$ Jahren geschlachtet, von uns untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 36: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 105), am 21. Juni 1905 im Alter von 3 Wochen zum ersten Male (Reaktion 0), am 4. Okt. 1905 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe negativ; am 11. Nov. 1907 im Alter von $2\frac{1}{2}$ Jahren geschlachtet, von uns untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Fall 37: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 184), am 15. Febr. 1906 im Alter von 3 Wochen zum ersten Male (Reaktion II), am 6. Juni 1906 zum zweiten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am

12. Nov. 1906 negativ; Mitte Mai 1907 im Alter von 1½ Jahren geschlachtet, tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Frei von tuberkulösen Veränderungen.

Versuchsgut VI vakat.

Versuchsgut VII (2 Sektionen, 1 Schlachtung).

Fall 38: Männliches Rind (Ohrmarke No. 147), am 17. Okt. 1905 im Alter von 3 Wochen zum ersten Male (Reaktion I), am 1. März 1906 zum zweiten Male (Reaktion 0) schutzgeimpft; Tuberkulinprobe am 8. Nov. 1906 negativ; am 24. Sept. 1908 im Alter von 3 Jahren auf dem Leipziger Schlachthofe geschlachtet.

Sektionsergebnis: Käsig tuberkulöse Bronchopneumonie in beiden Vorderlappen, Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose.

Fall 39: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 19), am 10. Juli 1907 mit Tuberkulin geprüft, positive Reaktion; am 25. Juli 1907 im Alter von 2½ Monaten zum ersten Male (Reaktion I) schutzgeimpft; am 8. Aug. 1907 im Alter von 3 Monaten unter den Erscheinungen der Lungenentzündung gestorben, im Veterinärinstitute seziert.

Sektionsergebnis: Ausgebreitete Pleuratuberkulose, käsig tuberkulöse Bronchopneumonie, Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose, frische Miliartuberkulose der Lunge, lobäre Pneumonie der Vorderlappen.

Fall 40: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 25), am 10. Juli 1907 mit Tuberkulin geprüft, positive Reaktion; am 25. Juli 1907 im Alter von 2½ Monaten zum ersten Male (Reaktion II) schutzgeimpft; am 5. Aug. 1907 im Alter von 3 Monaten unter den Erscheinungen der Lungenentzündung gestorben, im Veterinärinstitute seziert.

Sektionsergebnis: Ausgebreitete Pleuratuberkulose, käsig tuberkulöse Bronchopneumonie, Bronchial- und Mediastinaldrüsentuberkulose, frische Miliartuberkulose der Lunge, lobäre Pneumonie der Vorderlappen.

Fall 41: Weibliches Rind (Ohrmarke No. 38), am 28. Nov. 1907 mit Tuberkulin geprüft, keine Reaktion; am 18. Dez. 1907 im Alter von 2½ Monaten schutzgeimpft mit Tauruman; am 17. Nov. 1908 im Alter von 1¼ Jahren zum Schlachten verkauft, da es sichtlich in der Ernährung zurückging; tierärztlich untersucht.

Sektionsergebnis: Hochgradige ausgebreitete Tuberkulose der Brustorgane; Tuberkulose der Leber, Milz und Nieren.

Versuchsgut VIII vakat.

Nachdruck verboten.

Ueber die Fehlerquellen bei der Bestimmung des opsonischen Index.

[Aus dem Opsonischen Laboratorium (Abt. d. Path. Inst. d. Kgl. S. Tierärztl. Hochsch. zu Dresden).]

Von Privatdozenten Dr. med. **Strubell**, Leiter des Laboratoriums, gemeinsam mit Dr. med. vet. **Felber**, Assistenten des Laboratoriums.

Mit 1 Kurve.

Wie merkwürdig ist es doch, daß die Wahrheit, nach der wir doch alle streben, oft so schwer in den Gehirnen der Menschen Eingang findet, ja daß sogar in den wissenschaftlichen Köpfen Tatsachen, die als wahr in anderen Ländern sicher akzeptiert worden sind, beim Ueberschreiten

der Grenzen dieser Länder und bei ihrem Eindringen in ein neues Vaterland ihren bisherigen Wert plötzlich zu verlieren scheinen und bei Zunahme der Extensität ihrer Bekanntgabe gleichzeitig einen Teil ihrer bisher angenommenen Sicherheit einbüßen. Wie ist es erklärlich, daß eine großartig konzipierte, durch eine ganz außerordentlich große Anzahl von gewissenhaft ausgeführten Experimenten gestützte Lehre, wie die Opsoninlehre Wrights, zwar in England und Amerika vielseitige, wenn auch nicht einstimmige Billigung gefunden hat, beim Passieren des Aermelkanals und ihrem Eindringen in Deutschland so viele Angriffe auf ihr glänzendes Gefieder hat ausstehen müssen, daß sie sich heute dem opsonisch nicht geschulten, fleißigen Leser medizinischer Zeitungen in deutscher Sprache fast unter dem Bilde eines gerupften Hahnes präsentiert, wie es Francisco Goyas satirischer Griffel in seinen Proverbios und Capriccios gezeichnet hat. „Nach so viel hochfliegenden Hoffnungen welch ein Fall!“ müssen sich die Leser medizinischer Wochenschriften sagen, wenn sie von einer zum Teil so vernichtenden Kritik der Wrightschen Technik zur Bestimmung des opsonischen Index Kenntnis nehmen, wie wir sie jetzt des öfteren, z. B. in den Arbeiten von Saathoff, Rolly, Bächer und Laub u. a., finden. Es ist absolut kein Wunder, wenn die öffentliche wissenschaftliche Meinung in Deutschland von einer Methode sich abwendet, die zwar von berühmten Gelehrten auch jenseits des Ozeans als richtig und sehr brauchbar anerkannt wird, von der aber eine Reihe Assistenten deutscher Universitätskliniken und wissenschaftlicher Institute kategorisch erklärt hat, daß man mit ihr nicht arbeiten könne, weil die damit gewonnenen Resultate völlig unzuverlässig, die Fehlerquellen groß und unberechenbar seien. Es ist selbstverständlich, daß unter solchen Umständen auch die therapeutische Anwendung des opsonischen Index als einer Richtschnur für die aktive Immunisierung eine völlig illusorische sein muß, wenn anders die von einer Anzahl deutscher Autoren ausgesprochene abfällige Meinungsäußerung dauernd als zu Recht bestehend angesehen wird.

Und die, die seinerzeit eindringlich auf die Wichtigkeit und relativ große Sicherheit der opsonischen Methode hingewiesen haben? „Nun, das sind eben Enthusiasten, welche durch den Genius loci Londons infiziert und, von dem Brustton der Ueberzeugung der Wrightschen Schule betäubt, kritiklos die fremdländischen Resultate übernommen haben.“ — So ungefähr oder nicht viel anders folgert der deutsche Leser medizinischer Zeitungen, dessen Urteil durch opsonische Sachkenntnis und persönliche Erfahrung in der schwierigen Materie nicht getrübt ist. Und er hat von seinem Standpunkte aus ja ganz recht, haben doch sogar jüngere, bakteriologisch anscheinend gut geschulte Herren, welche sogar angeben, eine Zeitlang in Wrights Laboratorium selbst gearbeitet zu haben, sich gelegentlich höchst abfällig über die Methodik des englischen Gelehrten geäußert.

Was nützte es, wenn ein einzelner Gelehrter versuchte, dieser Welle der öffentlichen Meinung sich entgegenzuwerfen und mit dem Hinweise auf die so vielseitigen glänzenden Resultate englischer und amerikanischer höchst gewissenhafter Autoren die offenkundigen, zum Teil nur allzu klar in die Augen springenden kleineren und gröberen Versuchsfehler jener deutschen Autoren aufzudecken, um solchergestalt der einmal erregten Welle Stillstand zu gebieten! Der Versuch müßte ein vergeblicher bleiben, denn der Nachweis, daß diese absprechenden Kritiker die Technik ungenügend oder fehlerhaft gehandhabt haben, ist noch lange

kein Beweis für die Zuverlässigkeit der Methode. Immerhin sei hier darauf aufmerksam gemacht, daß schon Saathoff auf die Technik der Bereitung der Emulsion anscheinend nicht den genügenden Wert legt. Er bekommt auf solche Weise normale phagocytaire Zahlen zwischen 0,3 und 4,3, während Wright eine phagocytaire Zahl von 1,5—2,0 beim tuberkulo-opsonischen Index fordert. Daß Saathoff im Gegensatz zu Wright das opsonische Gemisch von Emulsion, Blutserum und -körperchen, wie er schreibt, in gleichmäßiger Verteilung auf dem Objektträger ausbreitet, was eine entschieden fehlerhafte und sehr unzuverlässige Abweichung von der Wrightschen Methode vorstellt, daß Bächer und Laub, mit denen der eine von uns (Strubell) bereits eine scharfe Polemik begonnen, aber noch nicht beendet hat, zwar die verschieden starke Säurefestigkeit einzelner Tuberkelbacillen als einen wichtigen Einwand gegen die opsonische Technik Wrights anführen, daß sie aber mit 25-proz. Salpetersäure statt mit 2½-proz. Schwefelsäure, wie es Wright will, entfärben. Es ist klar, daß die Entfärbung der Bacillen mit einer so starken Mineralsäure andere Ansprüche an die gleichmäßige Säurefestigkeit derselben stellt, als die milde Entfärbung mit 2½-proz. Schwefelsäure nach der Wrightschen Vorschrift. Die schlimmsten Versuchsfehler hat aber Rolly begangen, obwohl er behauptet, daß er die Technik nach Wrights Vorschrift genau beherrsche. Denn die souveräne Nichtachtung Wrightscher Vorschriften für die Bereitung der Bakterienemulsion hat diesen Autor allerdings auf Irrwege gebracht, die sein ablehnendes Urteil der ganzen Methode gegenüber verständlich, aber nicht sachgemäß begründet erscheinen lassen. Wright schreibt, wie Strubell in seinem Korollar zur Wrightschen Technik besonders betont hat, vor, daß die phagocytische Zahl, d. h. die von 100 Leukocyten bei Anwesenheit normalen Serums gefressenen Bakterien für Tuberkelbacillen 1,5—2,0, für die anderen Organismen nicht mehr als 3,0 auf die Zelle betragen soll. Und nun lese man die Tabellen Rollys, der bei Anwesenheit normaler Seren am 7. April 1908 eine phagocytaire Zahl von 22 Friedländer-Bacillen, 92 Tuberkelbacillen, 1160 Coli und 732 Staphylokokken gegen 1170 Friedländer, 153 Streptococcus virid. und 538 Staphylokokken am 2. April 08 gefunden hat. Und bei solchen Differenzen ist Herr Rolly nicht auf den Gedanken gekommen, daß hier nicht der verschiedene opsonische Gehalt des Normalserums gegen Friedländer und Staphylokokken, resp. Tuberkelbacillen und Streptokokken, sondern die völlig verschiedenen Konzentrationen seiner Emulsionen schuld an den so wechselnden Resultaten sein müssen. Wenn am 7. April 08 bei Anwesenheit von Normalserum 100 Leukocyten 22 Friedländer und 732 Staphylokokken fressen, und am 2. April 100 Leukocyten 1170 Friedländer und 532 Staphylokokken fressen, so ist es klar, daß nicht der in solchen Grenzen schwankende Gehalt des Serums an Normalopsoninen gegenüber dem Bacillus Friedländer, sondern eine weitgehende Nichtbeachtung der Konzentration der Emulsion hieran schuld ist. Wie kann man solche Zahlen miteinander vergleichen, wo doch die ganze Wrightsche Technik eben nur auf Vergleichswerten sich aufbaut, wenn das eine Mal die Emulsion so dünn ist, daß die Leukocyten die Bacillen kaum auffinden und fressen können, das andere Mal die Phagocyten ganz voll von Bakterien gestopft sind.

Wir sehen es nicht als unsere Aufgabe an, allen den mehr oder minder offenkundigen Versuchsfehlern abfällig über die Wrightsche Technik sich äußernden Autoren nachzugehen, wir haben nur die Rolly-

schen Versuchsfehler als ein besonders eklatantes Beispiel angeführt, besonders auch darum, weil die Arbeit dieses Autors viel zitiert und gegen die Opsoninlehre ausgespielt worden ist. Selbstverständlich beweisen so angestellte opsonische Untersuchungen gar nichts gegen die Wrightsche Lehre.

Aber es ist nicht unsere Absicht, das negative Teil der Kritik zu wählen, sondern in positiver Arbeit durch Aufstellung exakter Versuchsreihen der Lösung der Frage näherzukommen: Birgt die von Wright angegebene Technik zur Bestimmung des opsonischen Index solche Fehlerquellen, daß es auch bei gewissenhafter Beobachtung aller Vorschriften des Autors nicht möglich ist, die Grenzen des Irrtums ungefähr auf das Maß einzuengen, welches Wright selbst als zulässig bezeichnet hat?

In dieser Aufgabe werden wir wesentlich unterstützt durch die Anhaltspunkte, welche eine neue aus Wrights Laboratorium hervorgegangene Arbeit uns gibt, die Alexander Fleming (The Practitioner. May 1908. p. 607 ff.) publiziert hat. Während Wright ursprünglich den opsonischen Index normaler Menschen (— wenn wir vom opsonischen Index schlechthin sprechen, so ist damit natürlich stets der wichtigste aller Indices, der tuberkulo-opsonische gemeint —) zwischen 0,80 und 1,20 schwanken ließ, hatte schon Bulloch (Transactions of the Pathol. Society. Vol. 56. 1905) bei 84 gesunden Personen in 75 Fällen den Index zwischen 0,90 und 1,10 gefunden; nach Bulloch bewegt sich also in 89,3 Proz. der Fälle der Index zwischen 0,90 und 1,10. Fleming stellt nun in einer Tabelle, die wir hier reproduzieren, die Resultate zusammen, welche in St. Mary's Hospital vom August 1906 bis Juli 1907 bei der Untersuchung normaler Kontrollsera gewonnen sind. Wie bekannt, wird bei der täglichen Arbeit in Wrights Laboratorium stets der Index von mehreren, und zwar von mindestens 4 gesunden Mitarbeitern zur Kontrolle untersucht. Auf diese Weise wurden in der angegebenen Zeit die Blutproben von 44 Gesunden 635mal untersucht. Die Häufigkeit der Untersuchungen an den einzelnen gesunden Individuen schwankte sehr stark zwischen einmal und 193mal. Von dieser Summe von 635 Untersuchungen ergaben 0,8 Proz. den Index unter 0,90, 10,1 Proz. einen Index zwischen 0,90 und 0,95, 76,7 Proz. zwischen 0,95 und 1,05, 10,7 Proz. zwischen 1,05 und 1,10 und 1,7 Proz. über 1,10 (s. Flemings Tabelle I). Fleming betont, wie gering der Prozentsatz der normalen Indices ist, der außerhalb der Grenzen von 0,90 und 1,10 fällt, und er hebt die Tatsache hervor, daß beinahe die gleiche relativ geringe Zahl von Indices zwischen 0,90 und 0,95 einerseits, 1,05 und 1,10 andererseits fällt. Diese Zahlen gelten auch für die beiden Individuen, welche am häufigsten untersucht worden sind. Besonders niedrige Ablesungen können leicht zustandekommen, wenn das Ende der Glaskapsel beim Zuschmelzen etwas überhitzt wird; hohe opsonische Zahlen kommen zustande, bei der Isoagglutination der roten Blutkörperchen, auf welche er ausführlich eingeht. Eine ausgiebige Kontrolle durch jedesmal mehrere normale Blutsera vorausgesetzt, ist der eventuell durch nicht ganz genaues Abmessen gleicher Volumina beim Aufsaugen in die Pipetten entstehende Fehler nach Fleming minimal, denn wenn wir eine doppelte Menge Blutkörperchengemisch aufsaugen, sinkt der normale Index nur auf 0,80, saugen wir nur das halbe Volumen auf, so wächst er auf 1,15. Die Anwendung von 2 Volumen Emulsion vermehrt den Index auf 1,33, die

Tabelle I (Fleming).
Zusammenstellung der mit dem Blute Gesunder erhaltenen Resultate.

Untersuchte gesunde Personen	Anzahl der bei den betr. Individuen gemachten Bestimmungen	Der opsonische Index war:				
		unter 0,90	zwischen 0,90—0,95	zwischen 0,95—1,05	zwischen 1,05—1,10	über 1,10
1	193	1	23	143	23	3
2	77	—	7	62	7	1
3	48	1	1	40	5	—
4	45	—	1	35	7	2
5	43	1	3	34	5	—
6	28	1	5	18	3	1
7	27	—	1	22	3	1
8	21	1	2	14	3	1
9	20	—	2	15	3	—
10	16	—	4	10	2	—
11	11	—	—	10	1	—
12	11	—	3	8	—	—
13	9	—	1	8	—	—
14	7	—	7	—	—	—
15	6	—	1	5	—	—
16	6	—	1	5	—	—
17	5	—	2	3	—	—
18	5	—	—	4	1	—
19	5	—	2	1	2	—
20	5	—	—	4	1	—
21	4	—	—	4	—	—
22	4	—	1	3	—	—
23	4	—	—	3	1	—
24	3	—	—	2	—	1
25	3	—	—	3	—	—
26	3	—	—	3	—	—
27	3	—	1	2	—	—
28	3	—	—	3	—	—
je 2mal 29—32	8	—	2	6	—	—
je 1mal 33—44	12	—	1	10	1	—
Summa	635	5	64	488	68	10
in Proz.	—	0,8	10,1	76,7	10,7	1,7
97,5						

Anwendung des halben Quantums vermindert ihn auf 0,68. Es ist selbst verständlicherweise unmöglich, Fehler auch nur annähernd in dieser Größe zu machen, und so kann diese Fehlerquelle praktisch nicht in Betracht kommen. Sehr wichtig ist nach Fleming, daß die Mischung gründlich erfolgt; eine Verletzung der weißen Blutkörperchen durch zu kräftiges Mischen tritt nach seinen Versuchen nicht ein, ebenso wie er eine Unachtsamkeit bezüglich der Dauer der Inkubation im Opsonen nicht für sehr gefährlich hält.

Im Durchschnitt phagocytierte jede Zelle

nach 3 Minuten Inkubation	0,46	Bacillen
" 5 "	0,95	"
" 10 "	1,56	"
" 15 "	1,87	"
" 20 "	2,41	"

Auch bei großer Achtlosigkeit ist es unmöglich, die Zeit, um länger als 15 oder 30 Sekunden, zu verpassen. Viel wichtiger ist nach Fleming die Gefahr, daß die opsonische Mischung durch eine zu starke Verdünnung der gewaschenen Blutkörperchen infolge restierender Waschflüssigkeit,

i. e. physiologische Kochsalzlösung, verändert wird. Auch das möglichst sorgfältige Abpipettieren der Waschflüssigkeit genügt oft nicht, so daß Fleming im Gegensatz zu früheren Vorschriften Wrights den Vorschlag macht, nach dem Abpipettieren der Salzlösung die Blutkörperchen vorsichtig einmal durchzuschütteln. Wie große Fehler durch wechselnde Verdünnung der gewaschenen Blutkörperchen entstehen können, erhellt aus Flemings Tabelle II, welche wir ebenfalls der besseren Orientierung wegen hier wiedergeben.

Tabelle II (Fleming).
Resultate beim Gebrauch von verschiedenen Verdünnungen
der gewaschenen Blutkörperchen.

Grad der Verdünnung der gebrauchten Blut- körperchen	Durchschnitt der phago- cytierten Bakterien per Zelle	Verwendete Bakterienart
Unverdünnt	1,05	Tuberkelbacillen
Verdünnt, 6mal	1,56	"
Unverdünnt	1,08	"
Verdünnt, 2mal	1,27	"
Verdünnt, 5mal	1,58	"
Unverdünnt	3,46	Staphylokokken
Verdünnt, 4mal	4,05	"
Unverdünnt	2,34	Tuberkelbacillen
Verdünnt, 3mal	2,93	"
Unverdünnt	4,66	Staphylokokken
Verdünnt, 2mal	6,74	"
Unverdünnt	3,20	"
Verdünnt, 2mal	3,48	"
Unverdünnt	3,60	"
Verdünnt, 2mal	3,48	"
Unverdünnt	1,01	Tuberkelbacillen
Verdünnt, 2mal	1,17	"
Verdünnt, 2mal	1,10	"

Fleming bespricht des weiteren ein Phänomen, dessen Einfluß auf die Opsoninuntersuchungen erst ziemlich spät bekannt geworden ist: die Isoagglutination der gewaschenen Blutkörperchen und ihren Effekt auf die Phagocytose. Hektoen (Journ. of infect. Diseases. Juny 1907) hat im Gefolge von Landsteiner u. a. ein Schema für die Isoagglutination bei den verschiedenen Individuen aufgestellt, welches Fleming dahin vereinfacht, daß er die Menschen einteilt

1) in solche, deren rote Blutkörperchen durch kein Serum agglutiniert werden,

2) in solche, bei denen dies durch einige Sera geschieht.

Hektoen sah bei 76 Fällen 47 Proz. der ersteren und 53 Proz. der zweiten Klasse angehörend, während Fleming bei 138 Blutsorten 46, das ist 33 Proz., gar nicht agglutinierend, 92, d. i. 76 Proz., gelegentlich agglutinierend, fand. Die Stärke der Isoagglutination wechselt mit dem Serum, welches mit den Blutkörperchen gemischt wird. Manche Sera agglutinieren Blutkörperchen auch noch bei 64-facher Verdünnung. Diese Isoagglutination scheint ziemlich selten bei gesunden Personen zu sein, während sie nach Fleming recht häufig ist bei den hospital- und poliklinischen Patienten, die an irgendeiner bakteriellen Infektion erkrankt sind. In Anbetracht der Wichtigkeit dieser Sache für die opsonische Arbeit ist es gut, Blutkörperchen nicht zu verwenden, welche durch das Serum derselben Person agglutiniert werden, da es dann sehr wahrscheinlich ist, daß sie auch von anderen Seren in derselben Weise

beeinflusst werden. Fleming zeigt auf seiner Tafel III die beträchtlichen Irrtümer, welche entstehen können durch die Blutkörperchen von Untersuchern, welche durch einige Sera agglutiniert werden, Differenzen, welche so beträchtlich sein können, daß sie zwischen 24 und 220 Proz. schwanken, wobei immer die isoagglutinierten Präparate beträchtlich höhere Indices zeigten als die Kontrollausstriche. Abgesehen von der Isoagglutination, spielt die Quelle der roten Blutkörperchen, wie schon Wright und Douglas (Proceed. of the Royal Soc. Vol. 74. 1905) betont haben und Fleming neuerdings bestätigt, keine Rolle. Die Frage, ob die Blutkörperchen von einer gesunden oder von einer infizierten Person genommen sind, ist belanglos, wie an der Hand exakter Zahlen bewiesen wird. Daß Fleming auf die Bereitung der Emulsion, wie alle Wrightschen Schüler, den allergrößten Wert legt, ist selbstverständlich. Wichtig ist die Bemerkung, daß einige Bakterienarten, wenn sie frisch isoliert sind, durch normale Sera sehr schwer opsoniert werden, viel schwerer jedenfalls als durch Sera infizierter Personen. Das Resultat ist, daß der normale Index auf diese Weise zu niedrig, der opsonische Index der zu untersuchenden Patienten viel zu hoch herauskommt, und diese Diskrepanz ändert sich, sobald der Organismus eine Zeitlang auf künstlichen Nährböden kultiviert worden ist, in dem Sinne, daß die Indices der normalen und pathologischen Seren sich mehr und mehr einander nähern und richtige Resultate herauskommen. Es liegt hier gewiß eine wichtige Fehlerquelle vor, die besonders bei manchen Varietäten des *Bact. coli* und des *Meningococcus* zu beobachten ist. Selbstverständlicherweise haben diese Bemerkungen auf den tuberkulo-opsonischen Index keine Beziehung, da wir ja für die Emulsion abgetötete Bacillen verwenden. Auch der Agglutination von einigen Bakterien, darunter auch Tuberkelbacillen, durch das Serum tut Fleming Erwähnung, eine Erscheinung, die durch Erhitzen der Bacillen auf 100° vermieden werden kann, was natürlich nicht bei allen Mikroorganismen angängig ist, da sie ihre Färbbarkeit verlieren. In seiner Tabelle IV zeigt dieser Autor die beträchtliche Veränderung des opsonischen Index, welche durch das Vorhandensein auch nur geringer Mengen roter Blutkörperchen in dem zu untersuchenden Serum hervorgerufen werden können. Hier ist die allerhöchste Vorsicht geboten, da schon mäßige Beimengungen den Index in ganz beträchtlichem Maße verändern können.

Der opsonische Index des Blutes geht auch nach diesen Untersuchungen nur langsam herunter, ja er hält sich bei Zimmertemperatur in völlig zugeschmolzenen Glaskapseln im verdunkelten Raume eine ganze Woche auf der Höhe. Bei einem Blutserum war der opsonische Index nach 33 Tagen noch 0,52, bei einem anderen nach 39 Tagen noch 0,65, nach 69 Tagen noch 0,25, am 84. Tage erst war die opsonische Kraft vollständig verschwunden.

Goldene Worte sind es, die Fleming über das Auszählen der Präparate spricht, welches sehr leicht wäre, wie er sagt, wenn alle Emulsionen vollkommen schön und gleichmäßig wären, wenn nicht manche der Herren, die das Zählgeschäft übernehmen, stumpfsinnig statt mit Ueberlegung zählten. Was Fleming über die oft ungleichmäßige Färbung der Präparate und den glücklichen Erfolg einer nochmaligen Färbung solcher Ausstriche sagt (p. 628, Practitioner. May 1908), das können wir besonders den Herren Bächer und Laub zur Lektüre eindringlich empfehlen.

Auf seiner Tafel VII gibt Fleming die vergleichenden Zählresultate, welche drei Mitarbeiter des Laboratoriums, A, B und C, an 76 Ausstrichpräparaten gewinnen konnten; diese 76 Präparate wurden von 2, 24 von 3 Personen durchgezählt. Die Zahlen der Mitarbeiter A und B wichen nur in 7 von 76 Fällen um mehr als 10 Proz. voneinander ab; wir berechnen den Prozentgehalt der Fehler über 10 Proz. in diesen Fällen mit 9,2. In den 24 Fällen, welche auch der Mitarbeiter C gezählt hatte, waren A und C in 4 von 24 Fällen um mehr als 10 Proz. auseinander, B und C nur einmal. In den ersten Arbeiten über Opsonine haben Wright und Douglas Zahlen publiziert, welche zeigten, welchen hohen Grad von Uebereinstimmung 2 Arbeiter unabhängig voneinander bei der Bestimmung des opsonischen Index gegen Staphylokokken erreichen konnten. Flemming hält es für wichtig, an der Hand einer großen Tabelle zu zeigen, welcher Grad von Akkurateesse auch beim tuberkulo-opsonischen Index erzielt werden kann. In seiner letzten Tabelle zeigt er die Differenzen, welche bei doppelter Parallelbestimmung der opsonische Index von 26 tuberkulösen Patienten bei Anwendung von 14 Kontrollseris aufweist. Bei den 52 Bestimmungen der 26 tuberkulösen Sera wichen nur 2, d. i. also zirka 4 Proz. um mehr als 20 Proz. voneinander ab, 5, das sind 10 Proz., differierten zwischen 10 und 20 Proz., der Rest, das sind 86 Proz., zeigten Verschiedenheiten von weniger als 10 Proz. Selbstverständlich wurden die einzelnen Präparate von einer unabhängigen Person numeriert, so daß keiner der Untersucher wußte, ob er Präparate von Gesunden oder Kranken untersuchte. Ein letztes Experiment führt Fleming noch an, in dem er einem Patienten mit tuberkulöser Cystitis zu gleicher Zeit Blut in verschiedenen Glaskapseln abnahm; die eine Kapsel bekam er selbst, eine zweite Dr. Loveday von der Manchester Infirmary, eine dritte Probe Dr. Inman vom Brompton Hospital. Dr. Inman fand einen Index von 0,87, Dr. Loveday einen solchen von 0,79, Fleming selbst in 2 Präparaten das eine Mal 0,84, das andere Mal 0,87, so daß die größte Differenz 9 Proz. betrug.

Flemming kommt zu folgenden Schlußfolgerungen:

- 1) Die Schwankungen des tuberkulo-opsonischen Index von gesunden Personen sind sehr gering, deshalb liefert normales Serum einen guten Standard für die opsonische Vergleichung tuberkulöser Sera.
- 2) Eine Verminderung der gewaschenen Blutkörperchen in dem opsonischen Gemisch bewirkt eine Zunahme der phagocytischen Zahl.
- 3) Agglutination der gewaschenen Blutkörperchen bewirkt dasselbe.
- 4) Der tuberkulo-opsonische Index ist derselbe, gleichgültig ob man die gewaschenen Blutkörperchen von Gesunden oder Tuberkulösen nimmt.
- 5) Ist das zu untersuchende Serum mit roten Blutkörperchen vermischt, so wird die phagocytische Zahl vermindert.
- 6) Blutserum, in einer auf beiden Seiten zugeschmolzenen Glaskapsel bei Zimmertemperatur im Dunklen aufbewahrt, behält seine volle Kraft bei Gesunden für wenigstens die Dauer einer Woche, bei pathologischen Blutproben für ein oder zwei Tage mindestens.
- 7) Blutkapseln, welche mehrere Stunden offen gelegen haben, geben sehr unzuverlässige Ablesungen.
- 8) Zwei geschulte Beobachter erzielen beim Durchzählen derselben Ausstrichpräparate Resultate, die in fast allen Fällen nicht mehr als 10 Proz. voneinander differieren.

9) Doppelte Bestimmungen des tuberkulo-opsonischen Index bei Tuberkulösen können bewirkt werden mit Resultaten, die mit seltenen Ausnahmen (4 Proz.) um weniger als 20 Proz. voneinander differieren.

Die Ausführungen Flemings sind einfach mustergültig und ihre Kenntnis unerlässlich für jeden, der sich über den Wert und die Zuverlässigkeit des opsonischen Index orientieren will.

Es soll nun von uns in folgendem der Versuch gemacht werden, einen Teil der Resultate vorzubringen, welche wir im Verlauf der letzten Monate im opsonischen Laboratorium haben erzielen können. Es handelt sich für uns heute nur darum, die Frage zu beantworten: Sind solche scheinbar ideale Resultate, wie sie Wright erzielt und über die neuerdings Fleming berichtet hat, auch außerhalb von St. Mary's Hospital möglich, können solche günstige Ergebnisse auch ohne die großen Mittel des Londoner Opsonischen Departments mit seinem zahlreichen Stab opsonisch glänzend geschulter Assistenten erreicht werden? Daß ein einzelner Mann, der noch dazu durch die ärztliche Praxis tagsüber ermüdet ist, in den Abendstunden, ja auch bei Verwendung halber und ganzer Nächte für die opsonische Arbeit, nicht immer vollkommen gleichmäßige Werte erzielen kann, das hat der eine von uns (Strubell) zur Genüge erkannt und erfahren. Bei der großen technischen Schwierigkeit der Methode kommt fast bei jeder opsonischen Bestimmung der oder jener, meist aber mehrere Fehler vor, welche in den schönen Morgenstunden zwischen 3 und 4 Uhr zu korrigieren infolge der natürlichen Erschöpfung des Untersuchers schwer möglich ist. Kommt ein solcher Fehler aber statt früh um 3 nachmittags um 3 Uhr vor, und hat man eine genügende Anzahl von Mitarbeitern, so wird man über diesen Fehler wohl stolpern, hat aber noch genügend Muße, ihn zu korrigieren, so daß die opsonischen Untersuchungen dieses Tages keine vergeblichen zu sein brauchen. Die opsonische Arbeit ist eine Frage der persönlichen Gewissenhaftigkeit, aber auch eine Frage genügender Arbeitskräfte.

Und so haben auch wir uns weitere opsonische Hilfskräfte gewonnen, die uns in dankenswerter Weise unterstützt haben. Ohne eine genügende Anzahl von Arbeitern muß selbstverständlicherweise die opsonische Arbeit ihrer Qualität nach eine unzuverlässige werden.

Welche Mühe macht es nicht schon, stets gute, brauchbare Emulsionen parat zu haben! Und was das Zählgeschäft anlangt, so genügt es vielleicht, wenn wir anführen, daß, wenn wir pro Woche 100 opsonische Ausstrichpräparate machen, die Auszählung dieser Präparate insgesamt 50–60 Stunden in Anspruch nehmen kann. Es kämen somit auf jeden der 7 Wochentage, den Sonntag sogar eingerechnet, 7 Stunden ununterbrochenen Zählens. Mehr als 5–6 Stunden hält nach unserer Erfahrung kein Mensch dauernd ohne Schaden an seiner Gesundheit aus. Es mag ja Leute geben, welche auch auf die Dauer schneller zählen, ob ihre Resultate ebenso genaue sind, wissen wir nicht, aber in unserer Lage, wo es darauf ankam, methodisch exakt die Wrightsche Lehre und Technik nachzuprüfen, wo es darauf ankam, möglichst gleichmäßige Resultate zu erzielen, glaubten wir, den Wert unserer Leistungen nicht nach der Schnelligkeit beurteilen zu dürfen, mit der wir die einzelnen Präparate erledigten. Bezüglich der Technik dürfen wir wohl auf das

Korollar hinweisen, welches der eine von uns (Strubell) vor Jahresfrist in der Deutsch. mediz. Wochenschr. No. 19 publiziert hat. Wir haben uns selbstverständlich streng an die Wrightsche Technik gehalten, eine Versicherung, die wohl fast überflüssig erscheint. Dagegen maßen wir uns nicht an, zu sagen, wie es verschiedene der besonders abfälligen Kritiker getan haben, zu sagen, daß wir die Wrightsche Technik vollkommen beherrschen. Wir denken bescheidener von unseren Leistungen und möchten nur sagen, daß wir uns bemüht haben, dieser Technik in ihren feineren Details nach unseren Kräften gerecht zu werden. Wir wollen, indem wir unsere Resultate publizieren, damit nicht denen anderer Untersucher widersprechen. Es ist uns sehr wohl verständlich, daß man mit der Wrightschen Methode zu sehr schlechten Resultaten gelangen kann, und auch uns würde es eine Kleinigkeit sein, zu ähnlichen widersprechenden Resultaten zu gelangen, wie sie Rolly und andere gesehen haben; wir brauchten uns nur ein ganz klein wenig weniger Mühe zu geben, und das opsonische Tohuwabohu wäre fertig. Wir haben bei jedem Blutserum, das wir untersuchten, stets zwei Ausstrichpräparate gemacht und in 2mal 100 Leukocyten die phagocytäre Zahl ausgezählt, und wir bringen in einer besonderen Tabelle die Differenzen, welche ein und derselbe Untersucher beim Auszählen seiner beiden von ihm selbst gemachten Ausstrichpräparate hat konstatieren können. Die Untersuchungen, welche wir heute publizieren, beziehen sich im wesentlichen auf den tuberkulo-opsonischen Index von gesunden Menschen, wobei wir ganz im Sinne Wrights nicht den Index auf das Kontrollserum einer Person, sondern die Indices der zu untersuchenden Personen auf den Durchschnitt der normalen Indices von 3 bis 4 notorisch gesunden Kontrollpersonen bezogen haben. In vielen Fällen haben wir noch größere Vergleichsmöglichkeiten heranziehen können, indem wir bei der gleichzeitigen Untersuchung von 8 oder 10 gesunden Blutseren die Indices aus dem Durchschnitt der phagocytischen Zahlen sämtlicher Gesunder berechnet haben.

Daß das Berechnen des opsonischen Index aus mehreren Kontrollseren doch von Wichtigkeit ist, das lehrt unsere Tabelle III, wo wir bei 152 Einzeluntersuchungen den tuberkulo-opsonischen Index von 50 Gesunden, aber auch von einer Anzahl tuberkulöser Patienten (siehe die niedrigen Indices No. 20, 28, 29, 30, 34, 37, 38, 39 etc.) berechnet haben, und wo die erste Kolumne den opsonischen Index der untersuchten Person, bezogen auf den Index des einen von uns, der als 1,00 angenommen wurde, darstellt, während die zweite Kolumne den opsonischen Index derselben Person, berechnet auf 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 ja 12 und 13 Sera, veranschaulicht. Diese Tabelle lehrt einmal, daß es im Interesse gleichmäßiger Resultate wirklich sehr zweckmäßig ist, mehrere Kontrollseren zu verwenden, auf der anderen Seite erhellt aber gleichzeitig daraus, daß wenigstens nach unseren Erfahrungen aus dem Unterlassen dieser Vorsicht zum mindesten durchschnittlich keine allzu großen Fehler entstehen. Der opsonische Index eines und desselben Menschen kann allerdings innerhalb gewisser Grenzen nicht unbeträchtlich schwanken, und es ist ganz instruktiv, in Tabelle IV die Schwankungen des opsonischen Index des einen von uns (Felber) zu geben, wie sie sich im Verlaufe der allwöchentlich wiederholten Bestimmungen ergaben. Wenn der Index Felber in der Tat trotz zweifelloser völliger klinischer Gesundheit seines Trägers innerhalb der Grenzen 0,90 bis 1,08 gelegentlich einmal brüske

Schwankungen aufgewiesen hat, so hat er sich doch im wesentlichen in den Grenzen 0,95 und 1,04 gehalten. Immerhin ist es lehrreich und eben für die Frage, ob der Index aus einem oder mehreren Kontrollseren berechnet werden soll, von Wichtigkeit, auch bei einem völlig normalen Menschen diese Schwankungen zu konstatieren. Der andere von uns (Strubell) hält sich jetzt innerhalb der Grenzen der Norm, ist aber im März 1908 einmal vorübergehend offenbar infolge hochgradiger Ueberarbeitung (nächtelanges Opsonieren nach anstrengender Tagesarbeit) stark herabgesunken bis auf 0,68. Strubell war damals in Analogie anderer Wrightscher Schüler auf den baldigen Ausbruch irgendeiner tuberkulösen Erkrankung bei sich gefaßt; ein Aufenthalt von 4 Wochen an der See und 4 weiteren Wochen im Gebirge brachten den Index wieder hoch, so daß er jetzt zwischen 0,94 und 1,07 schwankt.

Tabelle III.

Differenzen bei Bestimmung des opsonischen Index bei Berechnung auf 1 oder mehrere gesunde Individuen.

I		II		III	
aus 1	aus 2		aus 2		aus 3
1) 1,00	1,08	7) 0,83	0,94	11) 1,00	1,00
2) 0,85	0,92	8) 0,92	1,05	12) 0,98	1,00
3) 0,71	0,76	9) 0,68	0,78	13) 0,93	0,94
4) 0,55	0,59	10) 0,45	0,61	14) 0,85	0,86
5) 0,53	0,58			15) 0,80	0,84
6) 0,45	0,48			16) 0,61	0,63
IV		V		VI	
	aus 3		aus 5		aus 6
17) 1,00	0,90	23) 1,00	0,96	31) 1,00	1,03
18) 0,99	0,89	24) 1,02	0,99	32) 1,04	1,08
19) 1,33	1,20	25) 0,93	0,90	33) 1,03	1,07
20) 0,74	0,66	26) 1,07	1,02	34) 0,78	0,83
21) 0,85	0,79	27) 1,19	1,11	35) 1,07	1,11
22) 0,93	0,84	28) 0,68	0,65	36) 0,81	0,84
		29) 0,49	0,47	37) 0,68	0,71
		30) 0,79	0,76	38) 0,65	0,67
				39) 0,57	0,59
				40) 0,88	0,92
VII		VIII		IX	
	aus 4		aus 5		aus 3
41) 1,00	1,01	46) 1,00	1,03	52) 1,00	1,08
42) 0,99	1,00	47) 0,92	0,95	53) 0,95	1,03
43) 0,90	0,92	48) 0,99	1,02	54) 0,85	0,87
44) 1,05	1,06	49) 0,88	0,91	55) 0,77	0,84
45) 0,87	0,89	50) 1,04	1,07		
		51) 0,85	0,91		
X		XI		XII	
	aus 3		aus 5		aus 10
56) 1,00	1,00	63) 1,00	1,04	68) 1,00	1,04
57) 1,01	1,02	64) 0,95	0,98	69) 0,97	1,01
58) 0,97	0,98	65) 0,93	0,97	70) 1,02	1,06
59) 0,66	0,67	66) 0,93	0,97	71) 0,97	1,00
60) 0,66	0,67	67) 0,95	1,00	72) 0,99	1,03
61) 0,77	0,77			73) 0,97	1,00
62) 0,66	0,67			74) 0,97	1,00
				75) 0,90	0,94
				76) 0,93	0,97
				77) 0,93	0,97

XIII			XIV			XV		
		aus 8			aus 13			aus 13
78)	1,00	1,01	86)	1,00	1,00	99)	1,00	0,95
79)	0,94	0,95	87)	1,00	1,00	100)	1,00	0,96
80)	1,00	1,01	88)	0,97	0,99	101)	1,01	0,98
81)	1,00	1,01	89)	0,97	0,99	102)	1,04	1,00
82)	0,96	0,98	90)	1,02	1,03	103)	1,06	1,02
83)	1,03	1,05	91)	1,01	1,02	104)	1,06	1,02
84)	0,96	0,98	92)	1,01	1,02	105)	1,07	1,03
85)	0,97	0,99	93)	0,97	0,98	106)	1,09	1,05
			94)	0,96	0,97	107)	0,99	0,95
			95)	0,90	0,91	108)	1,06	1,01
			96)	0,94	0,96	109)	1,07	1,04
			97)	1,04	1,05	110)	0,98	0,94
			98)	1,05	1,06	111)	1,01	0,98

XVI			XVII			XVIII		
		aus 13			aus 12			aus 8
112)	1,01	1,01	125)	1,00	1,00	137)	1,00	0,99
113)	1,02	1,04	126)	0,99	0,98	138)	1,03	1,02
114)	0,98	0,99	127)	1,00	1,00	139)	0,97	0,96
115)	1,00	1,01	128)	1,00	1,00	140)	1,05	1,04
116)	1,00	1,01	129)	1,02	1,02	141)	1,04	1,03
117)	0,95	0,97	130)	0,97	0,98	142)	1,00	1,00
118)	0,99	1,01	131)	1,02	1,03	143)	0,98	0,97
119)	0,96	0,98	132)	0,99	0,99	144)	0,96	0,94
120)	0,90	0,92	133)	0,93	0,94			
121)	1,00	1,02	134)	1,01	1,01			
122)	0,96	0,98	135)	0,97	0,98			
123)	0,99	1,00	136)	1,02	1,02			
124)	1,06	1,07						

XIX		
		aus 8
145)	1,00	1,02
146)	0,97	1,00
147)	0,97	1,00
148)	1,00	1,02
149)	1,00	1,02
150)	0,95	0,97
151)	0,96	0,99
152)	0,93	0,94

Tabelle IV.

Schwankungen des Tuberkuloopsonischen Index von Dr. Felber.

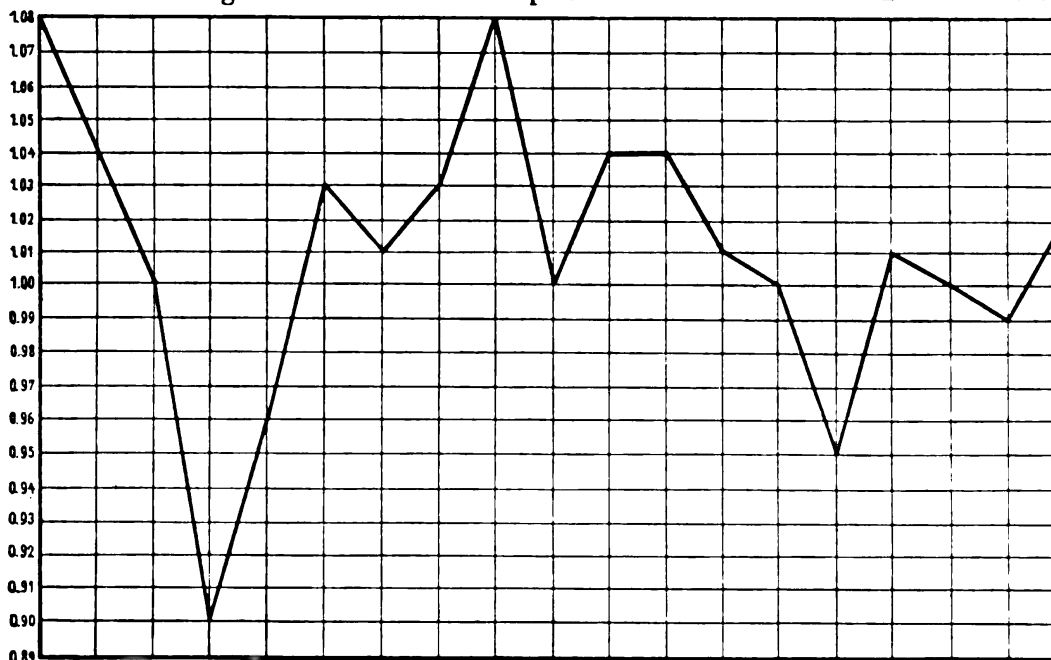


Tabelle V.

Name	Indices	Zahl der opson. Bestimm.	Der opsonische Index war				
			unter 0,90	0,90—0,94	0,95—1,05	1,06—1,10	über 1,10
1) Dr. Felber	1,08 1,00 0,90 0,96 1,03 1,01 1,03 1,08 1,00 1,04 1,04 1,01 1,00 0,95 1,01 1,00 0,99 1,02	18	.	1	15	2	.
2) Frenzel	1,03 1,02 0,98 1,01 0,95 1,00 0,96 1,04 0,98 1,02 1,00	11	.	.	11	.	.
3) Heyl	0,92 1,05 1,02 1,07	4	.	1	2	1	.
4) Dr. Strubell	0,94 0,93 0,89 1,11 1,07	5	1	2	.	1	1
5) Wunderlich	0,90 0,84 1,00	3	1	1	1	.	.
6) Faber	0,99 1,08 0,97	3	.	.	2	1	.
7) Schultze	1,06 0,87 1,00	3	1	.	1	1	.
8) Bintz	1,00 1,20	2	.	.	1	.	1
9) Lanzl	0,94	1	.	1	.	.	.
10) A. Müller	1,11 0,83	2	1	.	.	.	1
11) Dr. Tayler	0,92 1,02	2	.	1	1	.	.
12) Brücklmayr	0,95 0,98	2	.	.	2	.	.
13) König	0,91	1	.	1	.	.	.
14) Mis Tayler	0,97	1	.	.	1	.	.
15) Schmidt	1,06	1	.	.	.	1	.
16) Rückert	1,00 1,01	2	.	.	2	.	.
17) Zschenschter	1,03 0,98	2	.	.	2	.	.
18) Schindler	1,00	1	.	.	1	.	.
19) Friedrich	1,00 1,01	2	.	.	2	.	.
20) Thiemann	0,94 1,05	2	.	1	1	.	.
21) Benedix	0,97 0,97	2	.	.	2	.	.
22) Müller	0,97 0,99	2	.	.	2	.	.
23) Kraus	0,99 0,98	2	.	.	2	.	.
24) Ließ	0,98 1,00	2	.	.	2	.	.
25) Band	1,03 1,02	2	.	.	2	.	.
26) Bielig	1,02 1,02	2	.	.	2	.	.
27) Ludwig	1,03 1,03	2	.	.	2	.	.
28) Knebel	0,98 1,05	2	.	.	2	.	.
29) Fischer	0,97 0,95	2	.	.	2	.	.
30) Peiserich	0,91 1,01	2	.	1	1	.	.
31) Hochmut	0,96 1,04	2	.	.	2	.	.
32) Busch	1,05 0,94	2	.	1	1	.	.
33) König	1,06 0,98	2	.	.	1	1	.
34) Haeman	0,99 1,00	2	.	.	2	.	.
35) Dietze	1,01 1,00	2	.	.	2	.	.
36) Müller	1,07 1,02	2	.	.	1	1	.
37) Boetsch	1,01	1	.	.	1	.	.
38) Forster	0,97 0,98	2	.	.	2	.	.
39) Naumann	1,01 1,03	2	.	.	2	.	.
40) Puschmann	0,98 0,99	2	.	.	2	.	.
41) Biermann	0,92 0,94	2	.	2	.	.	.
42) Haberloh	1,02 1,01	2	.	.	2	.	.
43) Pflüger	0,98 0,98	2	.	.	2	.	.
44) Jäkel	1,00 1,02	2	.	.	2	.	.
45) Quaas	1,00 0,96	2	.	.	2	.	.
46) Frenzel II	1,04 1,02	2	.	.	2	.	.
47) Heinz	1,03 1,02	2	.	.	2	.	.
48) Findeisen	1,00 0,97	2	.	.	2	.	.
49) Engelke	0,97 0,99	2	.	.	2	.	.
50) Günther	0,94 0,94	2	.	2	.	.	.
Gesamtzahlen:		127	4	15	96	9	3
in % ausgedrückt:			3,15	11,81	75,59	7,06	2,36

Um nun gleich auf diese Frage, auf die Frage nach den äußersten Grenzen und nach den mittleren Schwankungen des opsonischen Index bei gesunden Menschen einzugehen, legen wir der Tabelle V unsere Erfahrungen an 50 Gesunden zugrunde, an denen in 127 Gesamtuntersuchungen der tuberkulo-opsonische Index bestimmt wurde. Unsere Tabelle V ist in Form und Anordnung genau so angelegt wie Flemings Tabelle I (Practitioner. May 1908), welche wir der Anschaulichkeit halber oben wieder gegeben haben (s. Tab. I). Unsere Tabelle V ist von dem einen von uns (Felber) aus unseren Protokollen herausgeschrieben und nach Angaben von Strubell zusammengestellt worden, wobei zu bemerken ist, daß Felber, als unsere Tabelle fertig war, noch keine Kenntnis von der Arbeit Flemings hatte, die er auch nicht hätte lesen können, da er der englischen Sprache nicht genügend mächtig ist. Um so größer war unser beiderseitiges Erstaunen, als wir die weitgehende Uebereinstimmung unserer Zahlen mit denen Flemings konstatieren konnten. Bei Fleming schwankt der opsonische Index von 44 Gesunden in 76,7 Proz. der Fälle zwischen 0,95 und 1,05, bei uns der von 50 Gesunden in 75,59, also sagen wir in 75,6 Proz. der Fälle. Das ist eine so weitgehende Uebereinstimmung, wie wir sie keinesfalls hätten erhoffen dürfen. Fleming fand den opsonischen Index von 0,90 bis 0,95 in 10,1 Proz., wir in 11,81 Proz. der Fälle, Fleming den Index 1,05 bis 1,10 in 10,7 Proz. der Fälle, wir in 7,08 Proz.; bei Fleming schwanken somit die Indices der 44 Gesunden zwischen 0,90 und 1,10 in 97,5 Proz., bei uns die der 50 Gesunden in 94,48 Proz. der Fälle. Die Resultate Flemings, also des Wrightschen Laboratoriums, sind demnach insofern günstiger als die unsrigen, als dort unter 0,90 nur 0,8 Proz., über 1,10 nur 1,7 Proz. der Fälle fielen, während wir bei den 50 Gesunden 3,15 Proz. unter 0,90 und 2,36 Proz. über 1,10 hatten. Von einer ganzen Heerschar von Veteranen aber im Punkte der exakten Behandlung der Methode um einiges übertroffen zu werden, kann für ein kleines Häuflein Rekruten keinesfalls beschämend sein. Das Wesentliche an diesem überraschenden Resultat ist doch das, daß nach unseren, von den Erhebungen des Wrightschen Laboratoriums völlig unabhängigen Feststellungen bei rund 75 Proz. der Fälle, i. e. $\frac{3}{4}$ der Fälle (bei Fleming sind es, wie gesagt, 76,7 Proz.) der Index gesunder Menschen innerhalb der Grenzen von 0,95 und 1,05 schwankt. Diese Tatsache ist um so wichtiger, als wir sie noch dadurch erhärten können, daß die Blutproben von No. 16 bis einschließlich 50 fortlaufend opsonischen Parallelbestimmungen durch zwei Opsonen unterworfen wurden, von denen jeder in seinen beiden Ausstrichpräparaten je 200 Leukocyten ausgezählt hat. Den opsonischen Indices unserer Tabelle von No. 16 bis einschließlich 50 liegen also mit einer Ausnahme (No. 37) doppelte opsonische Bestimmungen mit Auszählung der Bakterien von insgesamt 400 Leukocyten zugrunde. Unter den Indices außerhalb der Grenzen von 0,90 und 1,10 befinden sich zwei von Strubell (0,89 und 1,11), dessen Blut ohnehin, wie schon oben erwähnt, bis zu einem gewissen Grade trotz klinischer Gesundheit labil zu sein scheint; ferner ein Index von 0,84 bei No. 5, einem jungen Manne, der durch eine Furunkulose sehr heruntergekommen war; ferner bei No. 10 zwei Indices 0,83 und 1,11 eines ziemlich schlecht genährten jungen Mannes, dessen labiler Gesundheitszustand eine gewisse Schwäche bakteriellen Infektionen gegenüber wohlverständlich erscheinen ließ. Selbstredend liegt es uns fern, mit diesen Bemerkungen an den gefundenen Resultaten herumdrehen und

deuteln zu wollen, immerhin ist es doch wichtig, diese Details zur Kenntnis zu geben.

Tabelle VI.
Differenzen der Untersuchungen von 2 verschiedenen Ausstrich-
präparaten desselben opsonischen Gemisches.

Präparat		Differenz in %	Präparat		Differenz in %	Präparat		Differenz in %	Präparat		Differenz in %
I	II		I	II		I	II		I	II	
250	285	14	253	242	4,3	142	131	8,3	142	148	4,2
210	245	14	221	234	5,9	139	146	5	136	141	3,8
195	185	5	236	247	4,6	136	146	7,3	149	139	7,2
145	150	3	227	219	3,5	120	126	5	148	132	12
135	151	11	232	246	5,1	138	146	5,8	127	136	7
214	230	7	255	247	3,1	138	142	2,9	141	152	7
252	238	5,8	201	213	5,9	140	147	5	143	138	3,6
175	188	7	165	160	3	136	126	7,9	139	147	5,7
140	151	7,8	150	159	6	138	144	4,4	138	144	4,3
420	434	3,9	122	139	13	144	148	2,7	136	142	4,2
410	435	6	132	121	9	132	142	7,5	136	146	7,3
354	378	6,7	152	161	5,9	130	142	8,4	140	142	1,4
330	365	10	163	154	5,8	139	144	3,6	146	142	2,7
274	260	5,4	147	156	6,1	140	143	2,1	138	140	1,4
382	362	5,2	98	112	14,3	137	142	3,6	142	148	4,2
364	375	3	108	101	6,9	138	139	0,7	136	144	5,9
298	256	14	127	116	7,7	147	143	2,8	138	148	7,2
308	324	5,1	104	107	2,8	141	145	2,8	136	140	2,9
360	338	6,5	137	149	8,7	138	148	7,2	142	146	2,7
245	226	7,7	132	138	4,5	136	139	2,3	134	141	5,2
250	238	4,8	132	138	4,5	140	132	6,1	138	144	5
215	229	6,5	124	136	9,6	141	154	9,2	137	129	5,8
274	292	6,5	123	121	1,6	152	146	4,1	139	149	7,2
175	148	15	131	146	11,4	140	130	7	146	141	3,5
128	105	18	124	129	4	138	134	3	139	137	5,8
225	152	47	132	134	1,5	136	140	3	138	132	4,5
234	218	6,8	129	143	10,8	140	142	1	136	127	7
225	246	9,3	127	134	5,5	150	138	8	138	144	5
230	238	3,4	142	149	4,8	142	146	2,8	132	144	9
194	172	12,7	139	144	2,1	138	130	6	136	140	2,9
248	235	5,2	152	146	4,1	146	140	4	140	144	2,8
194	176	9,3	134	147	9,7	152	142	7	146	138	5,8
151	161	7	141	150	6,3	130	136	4	136	134	1,4
140	155	10	139	140	0,7	134	142	6	134	140	4,3
135	126	7,1	136	144	5,8	143	147	2,6	134	128	4,6
208	194	6,7	129	135	4,7	145	139	4,3			
244	256	5,3	138	134	2,9	142	147	3,5			

Die Differenzen betragen

0—5 Proz.

6—10 "

11—15 "

16—20 "

21—25 "

26—30 "

31—35 "

36—40 "

41—45 "

45—50 "

bei 86 Zählungen

" 48 "

" 10 "

" 1 "

" "

" "

" "

" "

" "

" "

" 1 "

in Proz. ausgedrückt

58,9

32,8

6,8

0,68

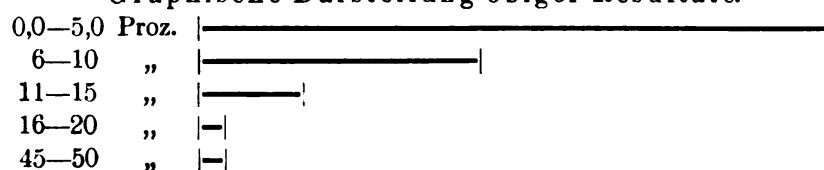
91,7

0,68

Wenn es uns bei diesen Untersuchungen somit anscheinend bis zu einem gewissen Grade gelungen ist, gröbere Versuchsfehler zu vermeiden, und es ist nach der Polemik der letzten Monate wichtig, festzustellen, daß es bei der genügenden Vorsicht möglich ist, die Fehlergrenzen der Bestimmung des opsonischen Index einzuschränken, auch außerhalb

Englands, so dürfte es angezeigt erscheinen, einigen der wichtigsten Fehlerquellen auf statistischem Wege nachzugehen. Wir beginnen mit der Möglichkeit der sicheren Zählung der Ausstrichpräparate, und führen in Tabelle VI die Fehlergrenzen der Untersuchungen von zwei verschiedenen Ausstrichpräparaten desselben opsonischen Gemisches an. Die Tabelle spricht für sich selbst; in Kolumne 1 bringen wir die ermittelte phagocytische Zahl (wir bemerken: die phagocytische Zahl bedeutet die in 100 Leukocyten gefundenen Bakterien, nicht den opsonischen Index; die Zahlen sind also die absolut gefundenen, nicht auf irgendein anderes Kontrollpräparat durch Rechnung bezogenen) des ersten, in Kolumne 2 des zweiten Ausstrichpräparates, in Kolumne 3 die Differenz zwischen beiden in Prozenten ausgedrückt. Das Résumé dieser Tabelle ergab, daß in 146 Doppeluntersuchungen die Differenzen zwischen zwei verschiedenen Ausstrichpräparaten in 86 Fällen, i. e. 58,9 Proz. der Fälle 0–5 Proz. betrugen, in weiteren 48 Fällen, d. h. 32,8 Proz. zwischen 6 und 10 Proz. Differenz gefunden wurde, das will sagen, daß die Differenz zwischen den Zählungen der beiden Ausstrichpräparate in 91,7 Proz. der Fälle unter 10 Proz. betrug, während sie in 6,8 Proz. der Fälle 11 bis 15 Proz., zwischen 16 und 20 noch 0,68 Proz. betrug. Wir geben noch eine graphische Darstellung obiger Tabelle, die vielleicht ganz instruktiv ist.

Graphische Darstellung obiger Resultate.



Es ist nun wichtig, die prozentuale Lagerung der Fehler, welche beim Zählen verschiedener Ausstrichpräparate desselben opsonischen Ge-

Tabelle VII.

Berechnete Indices bei zweierlei Blutkörperchen, Emulsionen, Opsoneuren und Zählkräften.

Name	Index A	Index B		Name	Index A	Index B	
Dr. Felber	1,01	1,04	2,9 Proz.	Peiserich	1,01	0,91	10,9 Proz.
Frenzel	0,95	1,01	6,3 „	Hochmut	1,04	0,96	8,3 „
Rückert	1,01	1,00	1,0 „	Busch	0,94	1,05	11,7 „
Friedrich	1,01	1,00	1,0 „	König	0,98	1,06	8,1 „
Zschentschter	0,98	1,03	5,1 „	Dr. Felber	1,00	1,01	1,0 „
Thiemann	1,05	0,94	11,6 „	Frenzel	0,98	1,04	6,1 „
Benedix	0,97	0,97	0,0 „	Haeman	1,00	0,99	1,0 „
Müller	0,99	0,97	2,0 „	Dietze	1,00	1,01	1,0 „
Dr. Felber	0,95	1,00	5,2 „	v. Müller	1,02	1,07	4,9 „
Frenzel	0,96	1,00	4,1 „	Forster	0,98	0,97	1,0 „
Kraus	0,98	0,99	1,0 „	Naumann	1,03	1,01	1,8 „
Ließ	1,00	0,98	2,0 „	Puschmann	0,99	0,98	1,0 „
Band	1,02	1,03	0,9 „	Biermann	0,94	0,92	2,1 „
Bielig	1,02	1,02	— „	Haberlah	1,01	1,02	0,9 „
Ludwig	1,03	1,03	— „	Pflüger	0,98	0,98	0,0 „
Knebel	1,05	0,98	7,1 Proz.	Jäkel	1,02	1,00	2,0 „
Fischer	0,95	0,97	2,1 „				

Sa. 33 Fälle.

0–10 Proz. 94,0 Proz. 10–15 Proz. Fehler 25 Fälle = 75,7 Proz.
 6–10 „ „ 6 „ = 18,2 „
 11 „ „ 2 „ = 6,0 „

misches entstehen können, zu vergleichen mit den Fehlern, welche bei opsonischen Paralleluntersuchungen an gesunden Personen von uns beobachtet werden konnten. Wir geben in Tabelle VII die berechneten Indices opsonischer Paralleluntersuchungen an Gesunden bei zweierlei Blutkörperchen, zweierlei Emulsion, zwei Opsonen und zwei Zählkräften, in Summa bei 33 Fällen. Die beiden ersten Kolonnen stellen den durch Auszählen von 200 Leucocyten aus je zwei Ausstrichpräparaten berechneten Index dar, den zwei Untersucher, A und B, ermittelt haben. Die 3. Kolonne bringt die Differenzen in Prozenten ausgedrückt. Von diesen 33 Fällen betrug die Differenz:

0— 5 Proz. in 25 Fällen, also 75,7 Proz. der Fälle	} Summa 93,9 Proz.
6—10 " " 6 " " 18,2 " " "	
11 " " 2 " " 6 " " "	

Daraus erhellt, daß bei am selben Tage ausgeführten Paralleluntersuchungen durch zwei Opsonen, die für die Untersuchung sogar getrennte Emulsion und verschiedene Blutkörperchen verwendeten, in 94 Proz. der Fälle die Fehler unter 10 Proz. betrugen. Das Resultat ist sehr beruhigend. Es ist offenbar, daß die eventuell bei den Zählungen entstehenden Fehler sich nicht mit den übrigen, beim Aufnehmen des opsonischen Gemisches entstehenden addieren müssen, sondern sich natürlich ebenso im Sinne der algebraischen Summe subtrahieren können, sodaß nach unseren Tabellen die Fehler bei den Zählungen zweier Ausstrichpräparate unter 10 Proz., 91,7 Proz. der Fälle ausmachen, während bei den der Zahl nach allerdings wesentlich geringeren opsonischen Paralleluntersuchungen sogar 94 Proz. der Fälle Differenzen unter 10 Proz. aufweisen.

Daß aber hiermit die Zahl der von uns gefürchteten Fehlerquellen noch nicht erschöpft ist, das geht aus einer weiteren Tabelle hervor (Tabelle VIII), in der wir den Einfluß der Isoagglutination auf den op-

Tabelle VIII.
Einfluß der Isoagglutinine auf den opson. Index.

Blutkörperchen mit Isoagglutininen verwendet.		Blutkörperchen ohne Isoagglutinine verwendet.	
I. opson. Index		II. opson. Index	
I	0,98		1,03
II	1,10		0,87
III	1,40		0,90
IV	1,07		0,93
V	1,12		0,86
VI	1,15		0,87
VII	1,10		0,90
VIII	1,04		0,91
IX	1,04		0,98
X	1,05		0,88
XI	1,09		0,87
XII	1,00		1,01
XIII	1,00		1,00
XIV	0,95		0,96

sonischen Index illustrieren möchten. Wir geben hier die Paralleluntersuchungen zweier Untersucher, von denen die Blutkörperchen des Einen (I) leider die unglückliche Eigenschaft haben, bei einer Reihe von Sera zu isoagglutinieren, während die Blutkörperchen des Zweiten diese störende Eigenschaft nicht besitzen. Die phagocytischen Zahlen von No. II sind vom Untersucher No. I nochmals kontrolliert worden, so daß die daraus berechneten Indices sich also auf die Auszählung von 400 Leucocyten stützen. Die solchergestalt mit einer relativ sehr großen

Sicherheit berechneten Indices von 12 teils gesunden, teils tuberkulösen Rindern weichen nun aber zum Teil sehr beträchtlich ab von den unter No. I aufgeführten Resultaten, welche I aus seinen isoagglutinierten Präparaten ermittelte. Wir machen besonders auf den Index No. 3 aufmerksam, der bei I 1,40 und bei II 0,90 beträgt. Auch sonst sind die Differenzen beträchtlich größer, als wir dies bei unseren Untersuchungen gewohnt waren, und wir gehen wohl nicht fehl, in Uebereinstimmung mit Flemings Untersuchungen diese hohen Differenzen auf die Störungen durch die Isoagglutination zurückzuführen.

Wir fassen unsere Ergebnisse folgendermaßen zusammen:

1) Wir kennen und würdigen die ganz außerordentlich großen Schwierigkeiten bei der Bestimmung des opsonischen Index nach Wright. Wir bestreiten auch keineswegs, daß es auch für fleißige Untersucher, welche gute Bakteriologen sind, sehr leicht sein kann, in schwere Versuchsfehler zu verfallen. Dies wird um so leichter geschehen bei denen, die nicht an Ort und Stelle direkt oder wenigstens indirekt durch einen Wrightschen Schüler sich die Technik angeeignet haben. Wir bestreiten nur auf Grund unserer Erfahrungen, daß diese von uns als zu Recht bestehend anerkannten großen Schwierigkeiten **unüberwindlich** seien. Allerdings gehört zur Ueberwindung derselben außer der nötigen Gewissenhaftigkeit und Bekanntheit mit den einzelnen Tricks der Methode eine genügende Anzahl von Arbeitskräften, die sich gegenseitig unterstützen und kontrollieren.

2) Die Berechnung des tuberkulo-opsonischen Index geschieht am besten aus den phagocytischen Zahlen mehrerer gesunder Personen (s. Tabellen III und V), ohne daß beim Vorhandensein nur eines Kontrollserums allzu große Fehler entstehen müßten.

3) Die Grenzen, innerhalb welcher der tuberkulo-opsonische Index normaler Individuen schwankt, scheinen in der Regel wesentlich enger zu sein, als sie Wright in seinen ersten Publikationen angenommen hat. Nach unseren Erfahrungen, welche sich in einer ganz auffälligen Weise mit den von Fleming publizierten neueren Resultaten des Wrightschen Laboratoriums decken, schwankt derselbe in 75 Proz. der Fälle zwischen 0,95 und 1,5, in nahezu 95 Proz. der Fälle zwischen 0,90 und 1,10.

4) Die Differenzen der bei der Untersuchung zweier Ausstrichpräparate desselben opsonischen Gemisches ermittelten phagocytischen Zahlen betragen unserer Erfahrung nach in beinahe 92 Proz. der Fälle unter 10 Proz.

5) Die tuberkulo-opsonischen Indices normaler Individuen differieren bei unseren opsonischen Parallelbestimmungen in etwa 94 Proz. der Fälle unter 10 Proz.

6) Eine der wichtigsten Fehlerquellen bei der Bestimmung des opsonischen Index ist das Auftreten der Isoagglutination der gewaschenen Blutkörperchen, welches bei einzelnen Individuen gelegentlich vorkommt.

Nachdruck verboten.

Serumkomplementbestimmung in homologem System.

[Aus der K. Universitäts-Kinderklinik in München (Vorstand:
Prof. Dr. M. Pfaundler).]

Von Dr. E. Aschenheim.

Nach einer von Moro beschriebenen Methodik (Ueber das Verhalten hämolytischer Serumstoffe beim gesunden und kranken Kind, Wiesbaden, Verlag J. F. Bergmann, 1908) hat dieser selbst und haben Heimann, Nothmann, Kaumheimer und Verf. zahlreiche Komplementbestimmungen im Serum von gesunden und kranken Menschen und Versuchstieren ausgeführt (Wiener med. Wochenschr. 1908. No. 1—3, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 1903, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XLIX. 1909). Dieser Methodik konnte der Vorwurf gemacht werden, daß sie mit nur einem bestimmten und zwar einem heterologen System arbeitet: Die Erythrocyten stammten vom Hammel, das Immunsrum vom Kaninchen und das auf Komplement zu untersuchende Serum vom Menschen. Moro arbeitete dann zum Teil mit Menschenerythrocyten und einem vom Kaninchen stammenden Menschenblutimmunsrum. Die Forderung aber, daß jedes der in Reaktion tretenden Haptine menschlicher Herkunft, das System also ein völlig homologes sein sollte, schien unerfüllbar, da ja das menschliche Serum natürliche Zwischenkörper auf Menschenerythrocyten nicht enthält und die Herstellung eines künstlichen Menschenblutimmunserums beim Menschen nicht angängig ist, vermutlich auch nicht gelingen würde.

Nun gibt es aber einen Zustand, der mit dem Auftreten von natürlichen, Menschenerythrocyten sensibilisierenden Ambozeptoren im menschlichen Serum einhergeht, nämlich die paroxysmale Hämoglobinurie. Die bezüglich grundlegenden Forschungen von Donath und Landsteiner wurden in allen wesentlichen Punkten unter anderen jüngst von E. Meyer und von Moro und Noda (Münchener med. Wochenschr. 1909. No. 11) bestätigt. Allerdings sensibilisieren diese Ambozeptoren menschliche Erythrocyten nicht in der Wärme, sondern nur in der Kälte. Dieser Bedingung ihrer Wirksamkeit läßt sich aber im Experiment leicht entsprechen, und so lieferte uns denn ein jüngst in der Klinik beobachteter, serologisch von Moro und Noda eingehend untersuchter und nach dieser wie nach klinischer Richtung völlig typisch befundener Fall von paroxysmaler Hämoglobinurie in seinem Serum ein Material, das den Aufbau eines ganz homologen Systemes: Menschenerythrocyten, Menschenblutimmunkörper aus menschlichem Serum, Menschenserumkomplement und die Ermittlung des Komplementwertes mittels dieses Systemes ermöglichte. Es wurde bei der Bestimmung folgendermaßen vorgegangen: 0,1 ccm 10-proz. Menschenerythrocytenemulsion wurde mit 0,1 ccm inaktiven Serums des Hämoglobinurikers zwecks Sensibilisierung $\frac{1}{2}$ Stunde lang in Eiswasser einer Temperatur von ca. 5° C ausgesetzt. Dann erfolgte noch in der Kälte Zusatz von 0,1 ccm des zu untersuchenden Menschenserums, worauf die Mischung in den Brutofen gebracht wurde. Nach 2-stündigem Aufenthalt dort wurde der hämolytische Effekt beobachtet. Zwecks quantitativer Bestimmung der gelösten Erythrocyten-

menge wurde (nach Moro) das Hämoglobin des ungelöst gebliebenen Blutkörperchenrestes nach Sahli ermittelt und diese Menge von dem Hämoglobin-Aequivalent der jedesmal angewandten Erythrocytenmasse in Abzug gebracht. Letzteres betrug 0,8 Sahli-Einheiten. Eine gelöste Menge von 0,8 würde somit kompletter Hämolyse entsprochen haben. Wenn aus Rücksicht auf das untersuchte Kind ausnahmsweise nur geringere Blutmengen entnommen worden waren, so ging ich mit durchweg halben Mengen vor und korrigierte danach das Ergebnis. Das in allen Proben verwendete Hämoglobinurikerserum stammte von einer Venaesektiae, wurde gleich nach Abscheidung inaktiviert und binnen 4 Tagen (14.—18. Nov. 1908) aufgearbeitet. Untersucht wurden nach Maßgabe des verfügbaren Materials gesunde und kranke Kinder verschiedenen Alters und ein gesunder Erwachsener. Das Ergebnis der Proben ist in folgender Tabelle enthalten.

Uebersicht der Ergebnisse der Komplementbestimmung.

	Name	No.	Alter	Menge des Hämoglobins der gelösten Erythrocyten in Sahli-Einheiten
A. Neugeborene und Brustkinder ohne Krankheitszeichen	R.	1	2 Tage	0,5
	W.	2	2 "	0,5
	G.	3	7 "	0,4
B. Bisher ziemlich gut gedeihende Brust- und Zwiemilchkinder	H.	9	70 "	0,4
	J. W.	7	69 "	0,2 (!)
C. Säuglinge von anscheinend oder sicher ungünstiger Veranlagung, d. h. mit Ernährungsstörungen oder unbefriedigendem Gedeihen bei „rationellem“ künstlichen (Heterodystrophie) oder sogar natürlichem Kostregime	G. Schm.	4	29 "	0,2
	G. K.	5	55 "	0,2
	M. W. I	6	63 "	0,3
	M. W. II	8	69 "	0,15
	M. Z.	13	4½ Mon.	0,3
D. Ditto, ausgesprochene Kuhmilchidiosynkrasie	O. S.	14	7½ "	0,1
E. Dekomposition und Intoxikation	E. W.	10	3½ "	0,6
F. Andere Erkrankungen von Säuglingen	{ Lues congen. Bronchopneumonie bei Rachitis	O. E.	11 3½ "	0,4
		H. K.	12 3½ "	0,25
G. Diverse Erkrankungen älterer Kinder	{ Bronchopneumonie bei Rachitis Croupöse Pneumonie in Krise Lungentuberkulose Anämie Skrofulose	W. G.	15 1¼ Jahr	0,15
		J. St.	16 4 Jahre	0,3
		J. S.	17 5½ "	0,3
		H. A.	18 7 "	0,35
		A. B.	19 9 "	0,3
H. Gesunder Erwachsener	E. A.	20	27 "	0,4

Ueberblickt man diese Ergebnisse, so sieht man zunächst, daß eine komplette oder fast komplette Lösung der Erythrocytenmenge in keinem Falle statthatte, auch nicht durch Sera, durch die eine solche in heterologem System nach dem sonst geübten Verfahren zu erwarten gewesen wäre. Freilich war mir leider bei der durch beschränkte Haltbarkeit des Hämoglobinurikerserums gegebenen Zeitbeschränkung keine Gelegenheit geboten, absolut einwandfrei gedeihende, ältere Säuglinge von aus-

gesprochen günstiger Veranlagung zu untersuchen („Heteroeutrophiker“ Pfaunders); doch pflegen auch gesunde Neugeborene, sowie schwer alimentär toxisch erkrankte Säuglinge (Fälle wie No. 1, 2 und 10) in dem System Moros komplett oder fast komplett zu lösen, also Werte von 0,7 und 0,8 zu ergeben, was hier nie der Fall war. Es scheint daher, daß die absoluten Werte, die nach diesem Verfahren gewonnen werden, nicht gleichzusetzen sind den mit anderen Systemen gewonnenen absoluten Werten; dies konnte auch von vornherein gar nicht erwartet werden; hingegen entspricht das Resultat dieser Untersuchungen ungefähr jenem früherer, wenn man die Daten relativ wertet. Auch hier wird nämlich im Säuglingsalter hohe Aktivität des Serums angetroffen bei neugeborenen und gesunden Brustkindern einerseits, bei alimentär Intoxizierten andererseits. Niedere Werte trifft man bei „ungünstig veranlagten Säuglingen“ (Dystrophikern) außerhalb der infektiösen Prozesse, wobei als Kriterium der „Veranlagung“ das Gedeihen und der Ernährungserfolg bei einigermaßen rationellem künstlichen oder bei natürlichem Nahrungsregime dient. Den niedersten Wert wies ein Kind mit ausgesprochener Kuhmilch-Idiosynkrasie auf, welchen Zustand Pfaunder als den Superlativ ungünstiger Veranlagung (Heterodystrophie) aufzufassen geneigt ist. Aus der Reihe fällt jener von nur 0,2 bei einem recht gut gedeihenden Brustkinde (No. 7). Solche Unstimmigkeiten enthalten unsere größeren Versuchsreihen durchweg.

Journalauszüge. (Geordnet nach dem Alter.)

Fall 1. R., 2 Tage altes, 3650 g schweres Kind, derzeit ohne Krankheitszeichen.
 „ 2. W., 2 „ „ 3040 „ „ „ „ „ „
 „ 3. G., 7 „ „ 3480 „ „ „ „ „ „
 „ 4. G. Schm., 29 Tage altes, untergewichtiges Kind; im 8. Monat frühgeboren, ernährt mit $\frac{1}{3}$ Milch, stets Intertrigo, Rhagaden an beiden Mundwinkeln, Diarrhöen; Mund- und Wangenschleimhaut gerötet.

Fall 5. G. K., 55 Tage altes, 4000 g schweres Kind, von einer schlecht genährten Mutter gestillt. In der Beratungsstelle konnte das weitere Schicksal verfolgt werden. In der 9. und 11. Lebenswoche erhebliche Abnahme des Körpergewichts, in der 10. und 13. nur sehr geringe Zunahme. Trotz ausreichender Brustnahrung blieb das Körpergewicht mehr und mehr hinter der Norm zurück. Von der 15. Lebenswoche an außer Beobachtung.

Fall 6. M. W., 63 Tage altes, 2320 g schweres Kind; als 1940 g schwerer, schwächlicher, asphyktischer Zwilling geboren. Die übrigen Geschwister zum Teil skrofultotuberkulös; mehrfach Abgänge. Bis zur Aufnahme in das Säuglingsheim künstlich ernährt und nicht gedeihend. Im Säuglingsheim teilweise brusternährt, wobei sich das Kind erholt.

Fall 7. I. W., 69 Tage altes, 3690 g schweres Zwillingskind aus der Beratungsstelle. Bei Zwiemilchnahrung bisher passabel gediehen, Mutter in ungünstigem Ernährungszustand. Von der 11. Woche an nicht mehr vorgestellt.

Fall 8. M. W., 69 Tage altes, 3490 g schweres Zwillingskind (Geschwister von Fall 7); unregelmäßige Zunahme bei Zwiemilchnahrung; in der letzten Woche Abnahme.

Fall 9. M. H., 70 Tage altes, 5040 g schweres, ziemlich gut gedeihendes Brustkind aus der Beratungsstelle. Wöchentliche Zunahme 40–120 g.

Fall 10. E. M., 3 $\frac{1}{2}$ Monate altes, 2660 g schweres Kind. Die 3 älteren Geschwister sind gestorben. Ueber die Vorgeschichte des im Säuglingsheim aufgenommenen Kindes nichts Näheres bekannt. Außerst dürrtöiges Kind, in der Anstalt anfangs künstlich ernährt; häufig fieberhafte Durchfälle, sehr langsame, oft unterbrochene Zunahme, später auch an der Brust. Toxische Erscheinungen bei „Dekomposition“ nach Finkelsteins Bezeichnung.

Fall 11. O. E., 3 $\frac{1}{2}$ Monate altes, 2670 g schweres Kind. Kongenitale Lues mit ausgedehntem makulopapulösen Syphilid, Rhinitis, Otitis, Milztumor, Ohrknorpel- und Gaumenschleimhautnekrose; Phlegmonen. Im Laufe der fast 2 $\frac{1}{2}$ -monatlichen klinischen Behandlung Abnahme um 300 g. Untersucht kurz vor dem Tode. Obduktion: Allgemeine Atrophie.

Fall 12. H. K., $3\frac{1}{2}$ Monate altes, 3870 g schweres Kind; stets künstlich ernährt; vor 3 Wochen mit Husten, Erbrechen und Fieber erkrankt. Schwach, mager, anfallsweise heftig hustend, cyanotisch. Beginnende Rachitis und Mikropolyadenopathie. Ausgedehnter bronchitischer, bronchiektatischer und Infiltrationsbefund diffus über beiden Lungen, zuletzt mit großblasigem, klingendem Rasseln. Pirquet und Tuberkelbacillen negativ. Unaufhaltsame Verschlechterung unter mächtiger Fieberbewegung. Obduktion: Subakute, teilweise abscedierende konfluierende Bronchopneumonie, eitrige Bronchitis, Lymphadenitis tracheobronchialis. Multiple Stauungskatarrhe.

Fall 13. M. Z., $4\frac{1}{2}$ Monate altes, 3800 g schweres Kind. Stets künstlich ernährt nach Vorschrift im Ambulatorium. Dabei immer wiederkehrende dyspeptische Störungen leichter Art mit Intertrigo. Sehr langsame Zunahme. Ende des ersten Lebensjahres erkrankt Pat. an schwerer Rachitis.

Fall 14. O. S., $7\frac{1}{2}$ Monate altes, 3790 g schweres (!) Kind. Im 7. Lunarmonate durch Kaiserschnitt geboren. Geburtsgewicht 1180 g. Durch Monate in der Couveuse des Säuglingsheims mit Frauenmilch ernährt. Stets äußerst labile Temperaturen mit starken Tagesschwankungen. Letzter Zeit blaß und schlaff. Seit 3 Wochen absoluter Gewichtsstillstand. Auf Kuhmilchfütterungsversuch stets Diarrhöen und Fieber.

Fall 15. W. G., 16 Monate altes, 66 cm langes, 4200 g schweres Kind; als Zwilling geboren, Vorgeschichte unbekannt. Sehr mageres, blasses, schlaffes Kind, Rachitis und paravertebrale Bronchopneumonie; häufige unregelmäßige Fieberbewegung. Andauernde Gewichtsabnahme bei schlechten Stühlen. Exitus 10 Tage nach der Untersuchung.

Fall 16. I. St., $4\frac{1}{2}$ Jahre alt. Croupös. Oberlappenpneumonie mit sehr ausgesprochenen meningitischen Erscheinungen. Kind angeblich jedoch schon 3 Wochen krank. Bald nach der Krise wieder Ansteigen der Temperatur, verursacht durch Pleuraempyem; Operation nach Bülow. Reparatoren sehr protrahiert; Untersuchung in der Krise; endlich Heilung.

Fall 17. I. S., $5\frac{1}{2}$ Jahre alt. Tuberkulös belastet, seit Jahren kränklich. Wiederholt „Lungenentzündungen“. Äußerst abgemagert, blaß. Tuberkulöse Spitzeninfiltration links ohne Zerfallserscheinungen. Anfangs hektisches Fieber. Untersuchung in einer fieberfreien Periode bei gebessertem Befunde und Allgemeinzustand.

Fall 18. H. A., 7 Jahre alt. Sehr mageres und äußerst blasses Kind. Ist viel krank gewesen und kommt wegen „Nervosität“ zur Aufnahme. Es handelt sich um einen leichten Grad von Schwachsinn, im übrigen den Effekt einer äußerst unzweckmäßigen Erziehung, Ernährung und Pflege durch eine schwer hysterische Mutter. Erhebliche Besserung unter verständigem Regime.

Fall 19. A. B., 9 Jahre alt. Schwere Skrofulose mit seit Jahren bestehenden multiplen Haut-, Schleimhaut- und Drüsenprozessen, auch Zeichen von Bronchialdrüsenanschwellung. Fieberfrei, wesentliche Besserung.

Fall 20. E. A., 27 Jahre alter, gesunder Erwachsener.

Nachdruck verboten.

Ueber die Eigentümlichkeiten des *Bac. typhi spermophilorum* in Medien, welche Trauben- oder Milchzucker enthalten.

[Aus dem landwirtsch.-bakteriol. Laboratorium des Ackerbauministeriums zu St. Petersburg (Direktor M. G. Tartakowsky).]

Von S. S. Mereshkowsky.

Im Jahre 1895 habe ich bei der Beschreibung des Charakters des Wachstums des von mir gezüchteten *Bac. typhi spermophilorum* darauf hingewiesen, daß die Entwicklung dieses Bacillus in Medien, welche Traubenzucker enthalten, mit Ausscheidung von Gasen nicht einhergeht. Kozay¹⁾ hat eingehende Untersuchungen mit diesem Bacillus

¹⁾ Kozay, The bulletin of the college of agriculture. Tokyo Imperial University, Japan. Vol. 4. 1902. p. 302.

angestellt, und ist, indem er dieselbe Frage berührte, zu entgegengesetzten Schlüssen gelangt.

Da der *Bac. typhi spermophilorum* zu der Gruppe der colityphösen Bakterien gehört, deren Fähigkeit, die eine oder die andere Zuckerart in Gärung zu versetzen, von vielen Autoren als Zeichen angesehen wird, auf Grund dessen sie die einzelnen Repräsentanten dieser Gruppe klassifizieren, so beschloß ich, die mir augenblicklich zur Verfügung stehende erneute Rasse dieses Bacillus dazu zu verwenden, um meine früheren Beobachtungen nachzuprüfen und zugleich den Charakter des Wachstums desselben in Medien zu studieren, welche Milchzucker enthalten.

In Anbetracht des Umstandes, daß die Gasausscheidung eine sehr geringe sein konnte (Kozay beobachtete in der Bouillon Bläschen nur beim Schütteln), beschickte ich mit dem Bacillus nicht nur Bouillon, sondern auch Agar (Stichverfahren), in dem die Gasbildung leichter wahrgenommen werden kann. Der Traubenzucker sowohl wie auch der Milchzucker wurden in einer Quantität von 5 Proz. zu den Medien zugesetzt, die eine schwach alkalische Reaktion hatten. Zur Aussaat verwendete ich eine Kultur, die nach einer Reihe von Passagen durch graue Hausmäuse für diese letzteren bei der Infektion per os dieselbe Virulenz besaß, wie die Kultur vom Jahre 1893. Die Beobachtung des Wachstums des Bacillus in den Medien, die Zucker enthielten, dauerte 7 Tage lang, wobei die Kulturen während dieser Zeit einer Temperatur von 37° ausgesetzt waren. Um festzustellen, ob die Medien für die geplanten Untersuchungen geeignet sind, wurde in denselben gleichzeitig die gasbildende Fähigkeit des Danysschen Bacillus geprüft.

Die Eigentümlichkeiten des Wachstums des *Bac. typhi spermophilorum*

I. in Medien, welche 5 Proz. Traubenzucker enthielten, waren folgende:

1) Gasbildung wurde weder in der mit Traubenzucker versetzten Bouillon, noch im Agar beobachtet.

2) Die Reaktion der Bouillon wurde schon nach 24 Stunden intensiv sauer und blieb so während der ganzen weiteren Zeit des Verweilens der Kultur im Brutschrank.

3) Die für Bouillonkulturen dieses Bacillus charakteristische, leicht niederfallende Membran entwickelte sich im Beisein von Traubenzucker nicht; vielmehr blieb die Oberfläche der Bouillon während der ganzen Zeit vollkommen klar. Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank bemerkte man in der Bouillon eine allgemeine leichte Trübung und einen ziemlich bedeutenden weißen Niederschlag, der beim Schütteln in Form von Fäden in die Höhe stieg. Am 2. Tage wurde die Bouillon vollständig klar, und jede weitere Entwicklung der Kultur schien aufgehört zu haben.

4) In mit Traubenzucker versetztem Agar bot das Wachstum des Bacillus nichts Besonderes dar.

II. in Medien, welche 5 Proz. Milchzucker enthielten:

1) Gasbildung wurde gleichfalls weder in der mit Milchzucker versetzten Bouillon noch im Agar beobachtet.

2) Die alkalische Reaktion der Bouillon nahm vom 2. Tage der Entwicklung des Bacillus allmählich zu und wurde gegen den 7. Tag intensiv alkalisch.

3) Der Charakter des Wachstums des Bacillus in mit Milchzucker versetzter Bouillon war im großen und ganzen derselbe wie in gewöhnlicher Bouillon.

4) In mit Milchzucker versetztem Agar war am Wachstum des Bacillus nichts Besonderes zu sehen.

Bei der Kontrollprüfung derselben Medien durch Beschickung derselben mit dem Danysz'schen Bacillus wurde Gaswirkung in der Bouillon und im Agar beobachtet, und zwar sowohl in denjenigen, die mit Traubenzucker, wie auch in denjenigen, die mit Milchzucker versetzt waren.

Aus dem Gesagten ergibt sich:

1) Daß der *Bac. typhi spermophilorum* in den jetzigen Experimenten ebenso wie im Jahre 1893 nicht die Fähigkeit besaß, Gas in Medien zu bilden, die Trauben- oder Milchzucker enthielten;

2) daß, wenn der Bacillus diese Fähigkeit auch besitzt, dieselbe geringer ist als die gasbildende Fähigkeit des Danysz'schen Bacillus und nur unter besonders günstigen Verhältnissen zur Geltung kommen kann, die in den Experimenten von Kozay wahrscheinlich auch vorgelegen haben.

Nachdruck verboten.

Prof. Dieudonnés Blutkaliagar, ein neuer Nährboden für die bakteriologische Diagnose der Cholera.

Von
und

A. Sineff,

Prosektor des Alten Katharinen-
Krankenhauses zu Moskau.

B. Drosdowitsch,

Assistenzarzt des Wladimir-Kranken-
hauses zu Moskau.

In Bd. 50. Heft 1 des Centralblattes für Bakteriologie etc. Abt. I. Orig. beschreibt Prof. Dieudonné einen Blutkaliagar, den er zur Isolierung des Cholera vibrio aus dem Stuhle der Cholerakranken empfiehlt. Der Autor, der mit Cholerareinkulturen Versuche anstellte, wie auch mit den Stühlen nicht Cholerakranker, zu denen er Cholerakulturen hinzufügte, erzielte dabei glänzende Resultate. Aehnliche Resultate wurden mit gleichem Erfolge von Huntemüller¹⁾ angestellt.

Da die Choleraepidemie in Rußland noch immer nicht aufhört und jetzt wiederum eine große Fläche Rußlands beherrscht und unter anderem auch Moskau bedroht, so haben wir Versuche mit dem Dieudonné'schen Blutkaliagar angestellt, um die Vorteile desselben für eine schnelle bakteriologische Diagnose der Cholera zu erproben.

Wir erlauben uns, an dieser Stelle die vorläufige Bemerkung zu machen, daß der Blutkaliagar sich als ein sehr guter Nährboden für den Cholera vibrio erwies. Im Alten Katharinenkrankenhause wird jetzt dieser Nährboden neben dem Peptonwasser mit Erfolg benutzt.

Wir bereiten den Blutkaliagar nach den Angaben Prof. Dieudonné's mit einigen unbedeutenden technischen Veränderungen. Das Rinderblut wird in einem sterilisierten emaillierten Eimer gesammelt

1) Ibidem.

und mit einem auch sterilisierten Drahtquirl defibriniert, den man in der Wirtschaft zum Schlagen des Eiweißes benutzt. Daraufhin wird das Blut durch ein feines, verzinntes Drahtsieb durchgelassen, dann erst wird das defibrinierte Blut mit gleichen Teilen einer Normal-Aetzkali-lösung (5,61 Proz.) gemischt und eine halbe Stunde sterilisiert. Der Blutkaliagar wird in Petri-Schalen verteilt und 24 Stunden im Thermostaten bei 37° getrocknet. Dieser Vorrat kann dann nach Bedarf benutzt werden.

Wir haben Versuche angestellt mit Reinkulturen des *Vibrio cholerae asiaticae*, mit choleraähnlichen Vibrionen, mit *Bacillus typhi*, *Bacillus dysenteriae*, mit dem Stuhle normaler Menschen und an Diarrhöe Leidender, schließlich wurde der Blutkaliagar zur Untersuchung der Dejektionen von Cholerakranken benutzt.

Aus den von uns angestellten Versuchen stellte sich heraus, daß *Vibrio cholerae asiaticae* sehr üppig auf dem Blutkaliagar wächst, auch choleraähnliche Vibrionen wachsen gut; das Wachstum der anderen Bakterien wird aber unterdrückt. *Bacillus coli communis* wächst in einigen Fällen gar nicht, in anderen erhält man ganz kleine Kolonien, die jedoch gar keine Aehnlichkeit mit denen des Choleravibrio aufweisen. Dasselbe kann man über *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacillus dysenteriae* sagen.

Die künstliche Beimengung einer Reinkultur von *Vibrio cholerae asiaticae* kann man auf dem Dieudonnéschen Nährboden nach 20–24 Stunden deutlich nachweisen; man sieht dann runde, platte Kolonien des Vibrio, die eine braungraue Farbe beim auffallenden Lichte zeigen und ganz durchsichtig im durchfallenden Lichte erscheinen.

Die Agglutination mit dem spezifischen Choleraserum, das man mit Kulturen direkt von dem Blutkaliagar nimmt, gelingt auch bei stärkeren Verdünnungen sehr gut.

Vom 27. Juni bis zum 20. Juli (alt. St.) hatten wir Gelegenheit gehabt, die Stühle von 3 Cholerakranken und von 3 Choleraträgern zu untersuchen.

Der erste Kranke, Töpfer von Beruf, fuhr auf 2 Tage nach Petersburg. Auf der Rückreise erkrankte er im Zuge an einer leichten Form der Cholera. Er verbrachte nur einige Stunden zu Hause, um dann sofort in das Alte Katharinenkrankenhaus gebracht zu werden. Hier wurde er ziemlich schnell gesund. Durch ihn wurde jedoch ein anderer Töpfermeister infiziert, der bald darauf starb (auch im Alten Katharinenkranken-hause), eine Köchin desselben und noch zwei. Diese drei waren auf einige Tage Choleraträger und zeigten nur sehr unbedeutende gastrische Erscheinungen. Der letzte Cholerafall, der bis jetzt in Moskau auftauchte, betrifft eine Frau, die mit dem Zuge aus Petersburg ankam.

In allen diesen Fällen wurden die Stühle gleichzeitig in der Prosektur des Krankenhauses und im bakteriologischen Institute der Moskauer Universität (Dr. Padlewsky) untersucht. Dabei zeigte der Choleravibrio auf dem Blutkaliagar stets ein typisches Wachstum — charakteristische runde Kolonien.

Da wir in den späteren Untersuchungen der Stühle solche Kolonien nicht nachweisen konnten, so hielten wir uns für berechtigt, zu erklären, daß die Choleravibrionen in den Stühlen der Kranken nicht vorhanden seien, um so mehr, da wir in den Resultaten mit dem Peptonwasser eine Bestätigung fanden. Irgendwelche widersprechende Resultate zwischen der Prosektur und dem bakteriologischen Institute wurden nicht bemerkt.

Mit vollem Rechte veranlassen uns solche Erfolge anzuerkennen, daß für die bakteriologische Diagnose der Cholera der Blutkaliagar von Prof. Dieudonné ein ausgezeichnete Nährboden ist.

Zusammenfassung.

1) Die Bereitung des Blutkaliagars von Prof. Dieudonné ist sehr einfach.

2) Die Choleravibrionen wachsen auf ihm sehr gut.

3) Ebensogut, oder fast ebensogut wachsen auf ihm die cholera-ähnlichen Vibrionen.

4) Das Wachstum des *Bac. coli* und einiger anderer Mikroben wird unterdrückt, doch nicht ganz, jedoch hindert das keineswegs in der Diagnosestellung.

5) Die Diagnose einer Choleraerkrankung erhält man schnell und sicher.

6) Der Blutkaliagar von Prof. Dieudonné ist nach vielen Seiten vorteilhafter als das Peptonwasser.

Moskau, den 4. August 1909.

Nachdruck verboten.

Nachtrag zu meinem Artikel: „Eine praktische Pipette“¹⁾.

Von Prof. Dr. Th. Kitt.

Nach Publikation genannten Artikels erhielt ich eine briefliche Mitteilung von Prof. Max Neisser (Frankfurt), welcher darin die Güte hat, mich aufmerksam zu machen, daß bereits der Altmeister der Botanik Ferdinand Cohn sich einer ganz gleichartigen Pipette bedient habe.

Eine Veröffentlichung über das somit schon früher erfundene Instrument scheint jedoch nicht geschehen zu sein; wenigstens konnte ich weder in den von Ferd. Cohn herausgegebenen Schriften, soweit selbe mir zugänglich, eine Bekanntgabe antreffen, noch bei Umfrage unter Botanikern eine solche erfahren, indes erinnerte sich Prof. Rosen (Breslau), die Pipette ebenfalls im Gebrauche Ferd. Cohns gesehen zu haben.

Ich halte es für meine Pflicht, dies hier zur Kenntnis zu geben, und hatte eigentlich, obgleich ich tatsächlich ganz unabhängig die Pipette mir ausgedacht habe, erwartet, daß eine ältere Autorschaft auftauchen werde, weil das Ding zu einfach und naheliegend ist, als daß noch niemand hätte darauf kommen sollen. Dergleichen Kleinigkeiten werden ja des öfteren in verschiedenen Laboratorien unabhängig konstruiert, kommen nicht zur allgemeinen Kenntnis und daher jeweils in Vergessenheit.

Da jeder in der Glasbläserei Bewanderte sich die Pipette leicht

1) In Abt. I. Orig. Bd. L. p. 646 dieses Centralblattes.

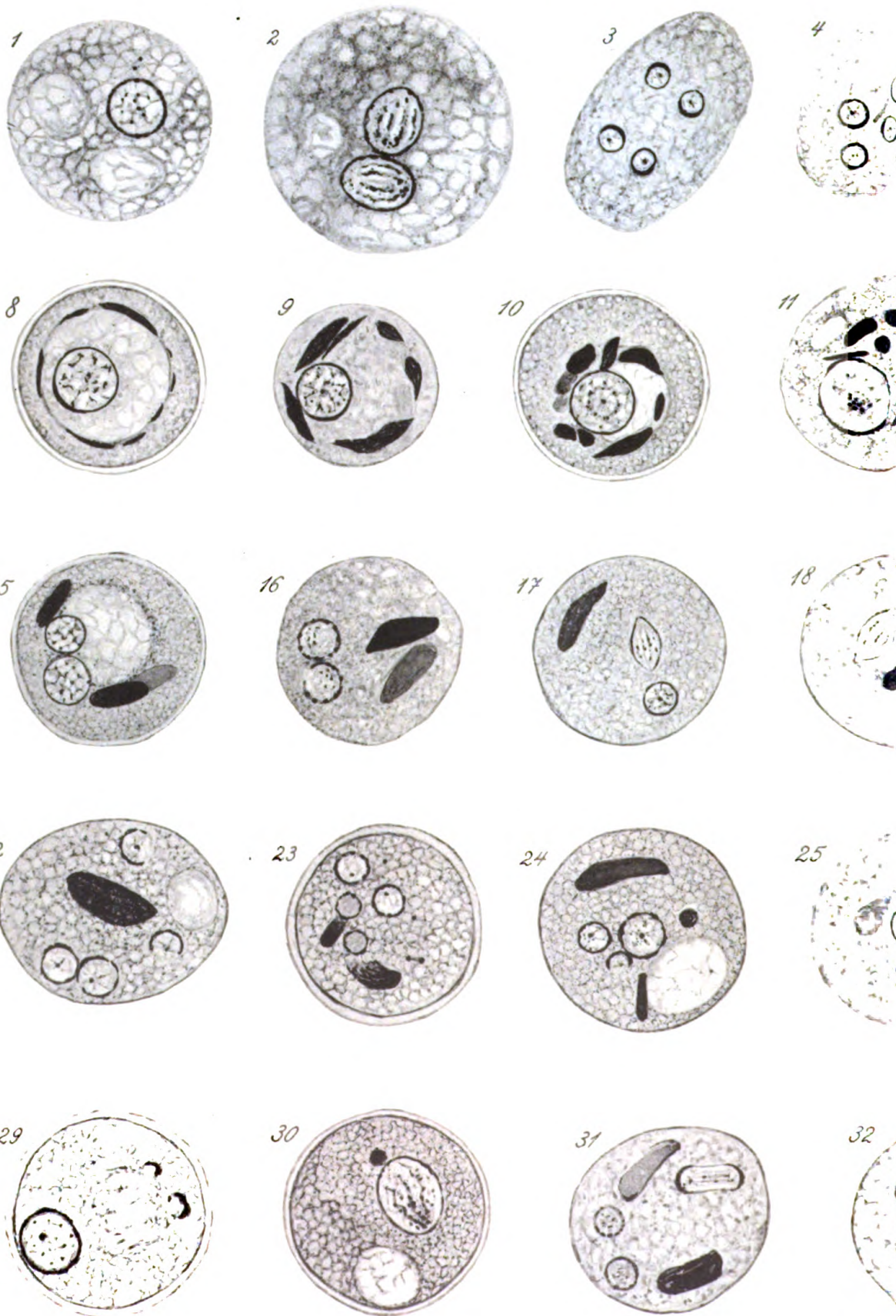
selbst herstellen kann¹⁾ und das Ding wirklich praktisch ist, mag meine Notiz zur Verallgemeinerung des Gebrauchs nicht überflüssig gewesen sein.

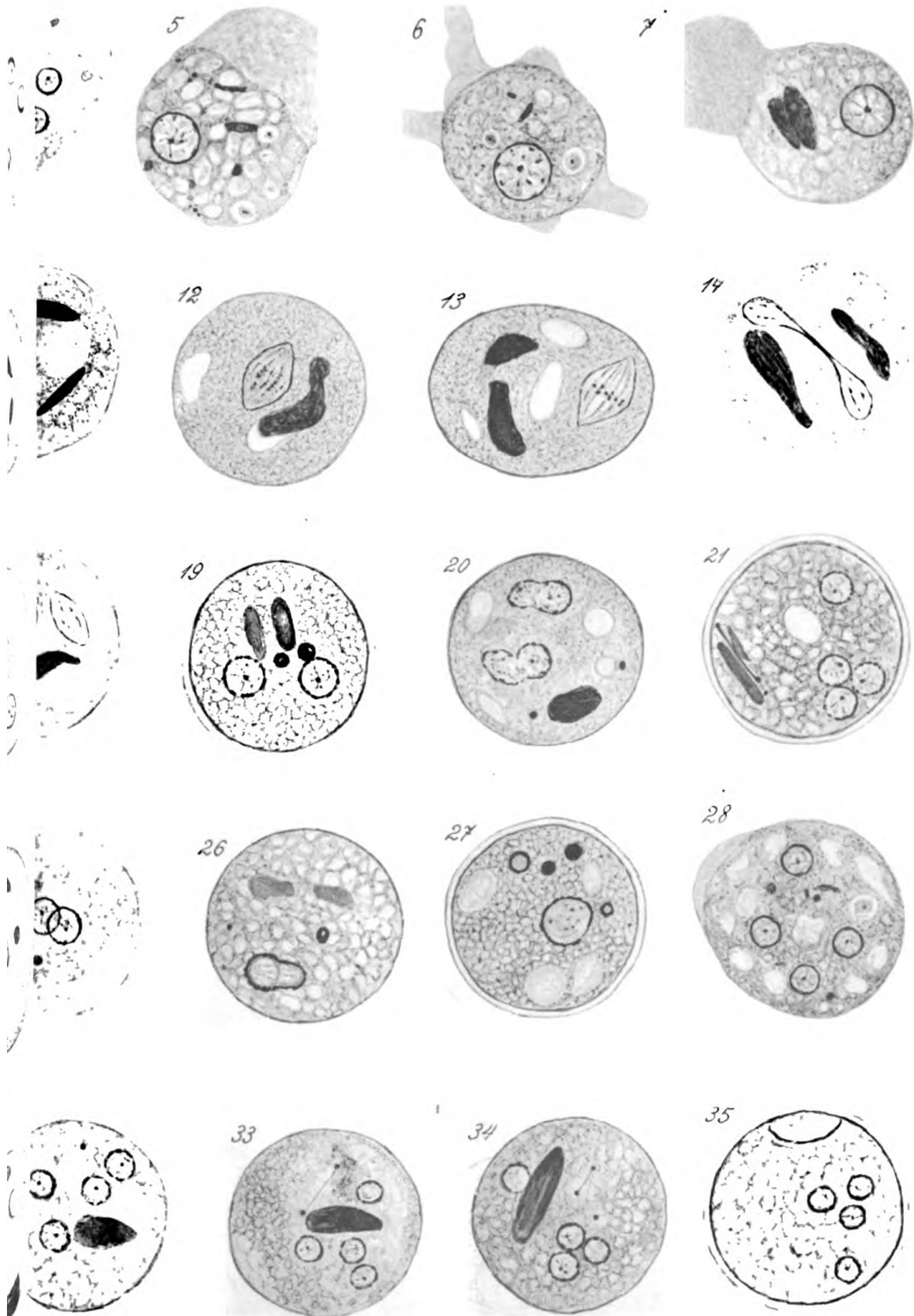
1) Zur richtigen Funktionierung kommt es besonders auf die Beschaffenheit der Gummikappe und Enge der Spitzenöffnung an; die Firma Lautenschläger fertigt genau nach meiner Angabe das Instrument. (Bei Reproduktion der Zeichnung in genannter Publikation wurde die Graduierung nicht exakt, ein Teilstrich zu viel und zu hoch, wiedergegeben.)

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- | | |
|--|---|
| <p>Aschenheim, E., Serumkomplementbestimmung in homologem System, p. 424.</p> <p>Busse, Otto, Vorkommen und Verbreitung der Trichinen im Regierungsbezirk Posen, p. 368.</p> <p>Cardamatis, Jean P., Le paludisme des oiseaux en Grèce. Étude biologique et histologique du parasite de Danilewsky, p. 351.</p> <p>Eber, A., Weitere Beobachtungen über Anwendung des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfverfahrens in der Praxis, nebst einem Nachtrag über Taurumanimpfungen, p. 389.</p> <p>Elmassian, M., Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, <i>Entamoeba minuta</i> n. sp., p. 335.</p> <p>Fantham, H. B. und Porter, Annie, <i>Bacillus arenicolae</i> n. sp., a pathogenic Bacterium from the gut-epithelium of <i>Arenicola ecaudata</i>, p. 329.</p> <p>Fonteyne, Agglutine et antiagglutine, p. 377.</p> <p>— —, Anti-antitoxine, p. 383.</p> | <p>Fonteyne, Anti-hémolysines ou anti-sensibilisatrices, p. 387.</p> <p>Glockel, D., Vergleichende Untersuchungen der biochemischen Eigenschaften des <i>Bacillus osteomyelitis</i> Henke mit denen des <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>citreus</i> und <i>Bact. coli</i> commune, p. 318.</p> <p>Kitt, Th., Nachtrag zu meinem Artikel: „Eine praktische Pipette“.</p> <p>Mereshkowsky, S. S., Ueber die Eigentümlichkeiten des <i>Bac. typhi</i> <i>perniphilorum</i> in Medien, welche Trauben- oder Milchzucker enthalten, p. 427.</p> <p>Sineff, A. und Drosdowitsch, E., Prof. Dieudonné's Blutkalkagar, ein neuer Nährboden für die bakteriologische Diagnose der Cholera, p. 429.</p> <p>Strubell und Felber, Ueber die Fehlerquellen bei der Bestimmung des opsonischen Index, p. 406.</p> <p>Vay, Franz, Ueber körnchenartige Bildungen in Pestbakterien, p. 305.</p> |
|--|---|



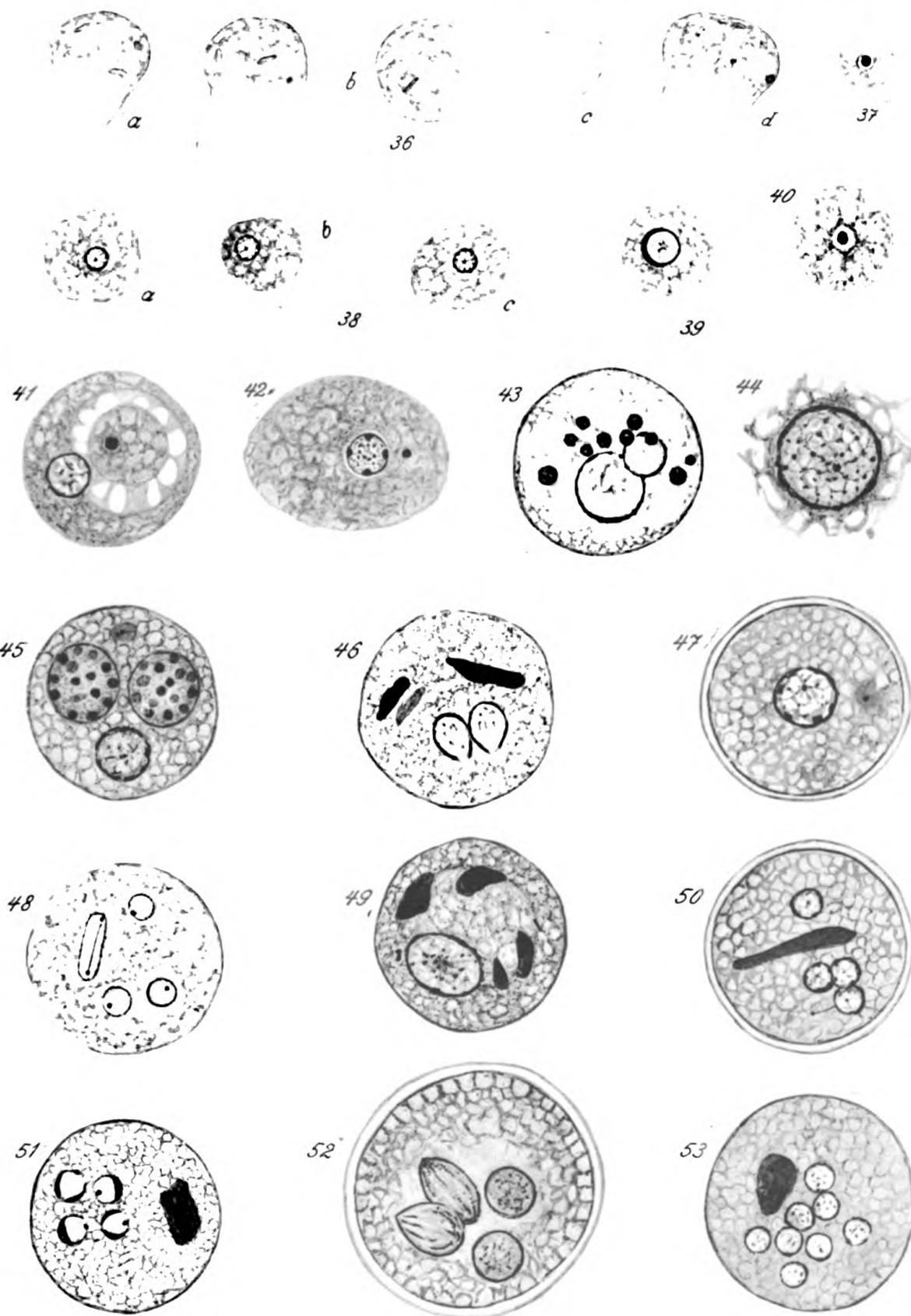


Fischer in Jena.

Digitized by

Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Ue
er

(An
sch

tier
den
suc
teil
bes
Gär
star
nich
nich
anf
Apf
Sek
Hei

übe

ge
der
bar
Au
üb
Da
Bl
ma
ch
sa
st
de
de
an
I
se
in
a
e

Nachdruck verboten.

Ueber eine durch den *Bacillus septicaemiae anserum exsudativae* (Riemer) bedingte Gänseseuche, zugleich ein Beitrag zur Frage der Pseudoinfluenzabacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Königlichen Tierärztlichen Hochschule zu Berlin (Leiter: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. P. Frosch).]

Von
Prof. Dr. P. Frosch, und Dr. K. Bierbaum,
Geh. Medizinalrat. wissenschaftl. Hilfsarbeiter.

Mit 6 Figuren.

Im Mai 1908 erhielt das Hygienische Institut von dem Departementstierarzt, Veterinärat Dr. Kampmann in Stralsund 2 tote Gänse aus dem Gänsebestande eines Rittergutes im Kreise Franzburg zur Untersuchung und Feststellung der Todesursache eingesandt. Nach Mitteilungen des Einsenders waren von dem ca. 600 Tiere großen Gänsebestande 150 Stück seuchenhaft verendet. Vorwiegend erkrankten junge Gänse, doch wurden auch einige alte Gänse von der Seuche befallen und starben. Auf das übrige Geflügel des Rittergutes ging die Krankheit nicht über. Geflügelcholera oder -Pest lag nach Ansicht des Einsenders nicht vor, ebenso keine Diphtherie, obwohl öfters Husten mit Erstickungsanfällen beobachtet wurde. Die kranken Tiere magerten trotz erhaltenen Appetits schnell ab und starben anscheinend an Entkräftung. Bei der Sektion fand sich eine eiterige Entzündung des Lungengewebes und Herzbeutelwassersucht.

Die Untersuchung der beiden eingesandten Gänse lieferte folgenden übereinstimmenden Befund:

Schlecht genährte Kadaver, bereits ziemlich stark in Fäulnis übergegangen. Nach Eröffnung der Bauchhöhle zeigt sich die Oberfläche der Leber mit einem gelblich-weißen, 0,5—1 mm dicken, leicht abziehbaren fibrinösen Belag bedeckt. Zwischen den Darmschlingen liegen Auflagerungen von derselben Art. Die Leber ist leicht geschwollen, im übrigen, ebenso wie Milz und Nieren, ohne besonderen Befund. Die Darmschleimhaut ist stellenweise geschwollen, gerötet und mit kleinen Blutungen durchsetzt. Am Uebergang des Muskelmagens in den Drüsenmagen finden sich ziemlich zahlreiche Exemplare von *Dispharagus uncinatus*. In der Umgebung der Parasiten ist die Schleimhaut des Drüsenmagens stellenweise blutig durchtränkt. Der Herzbeutel ist mit grauweißen, sulzigen Auflagerungen bedeckt, bei der Eröffnung findet sich etwa 1 Teelöffel voll einer serösen, trüben Flüssigkeit im Pericard. Auf dem Epicard sieht man gleichfalls dünne fibrinöse Beläge. Die Lungen des einen Kadavers sind hellrosarot und überall lufthaltig, bei dem anderen sind in den Lungenpfeifen stellenweise gelbliche, fibrinös-eiterige Pfröpfe sichtbar. In Ausstrichen aus dem Herzblut finden sich mikroskopisch neben langen, dicken Kadaverbacillen kleine, schlanke Stäbchen, häufig zu zweien hintereinander gelagert in mäßiger Anzahl vor. Aus dem Herzblut wurden Kulturen auf gewöhnlichem schwach alkalischen Schrägagar angelegt und mit einem erbsengroßen Stück Blutkoagulum

eine Taube subkutan und intramuskulär geimpft, da Gänse zur Impfung nicht gleich zur Verfügung standen. Die Taube blieb vollständig ge-

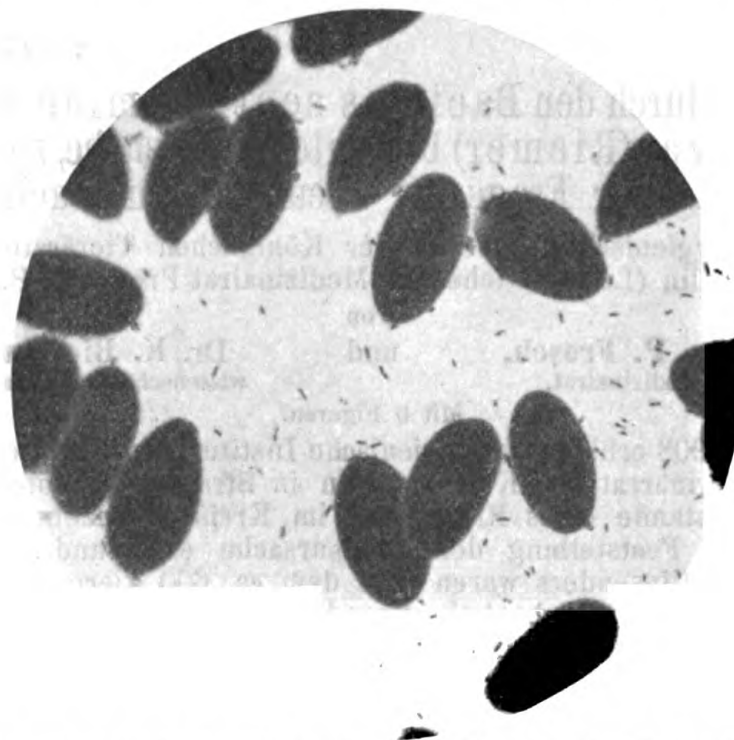


Fig. 1. Ausstrichpräparat aus dem Herzblut einer infizierten Gans.

Die Photogramme 1—3 sind in dankenswerter Weise von Herrn R. Uebel-Berlin angefertigt. No. 4 ist nach einer Photographie von R. Pfeiffer, No. 5 nach einer Photographie von Beck, No. 6 nach einer Photographie von Friedberger reproduziert.

sund. Auf den angelegten Agarkulturen wuchsen nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C neben einigen großen, weißlichen



Fig. 2. Reinkultur.

an Gans 3 intraperitoneal und an Gans 4 intramuskulär verimpft. Der Rest dieser Aufschwemmung wurde zunächst durch Fließpapier und hier-

Kolonien (Verunreinigung) zahlreiche kleine, tautröpfchenartige, durchsichtige, schwach opaleszierende Kolonien. Die mikroskopische Untersuchung derselben ergab, daß sie aus kleinen, schlan- ken Stäbchen bestanden, die den in den Herzblutausstrichen der eingesandten Gänse gefundenen durchaus glichen. Eine Fortzüch- tung dieser Kolonien auf ge- wöhnlichem Agar und in Bouillon gelang nicht, die angelegten Röhr- chen blieben steril. Die 2 Tage auf Eis aufbewahrten Herzblut- koagula der beiden eingesandten Gänse wurden fein zerschnitten, im sterilen Mörser mit Kochsalz zerrieben und hiervon je 2 cm

nach durch eine Reichelkerze filtriert. Von dem auf Sterilität geprüften Filtrat wurden 5 ccm an Gans 5 intramuskulär und 10 ccm an Gans 6 intraperitoneal verimpft. Während Gans 5 und 6 keinerlei Krankheits-

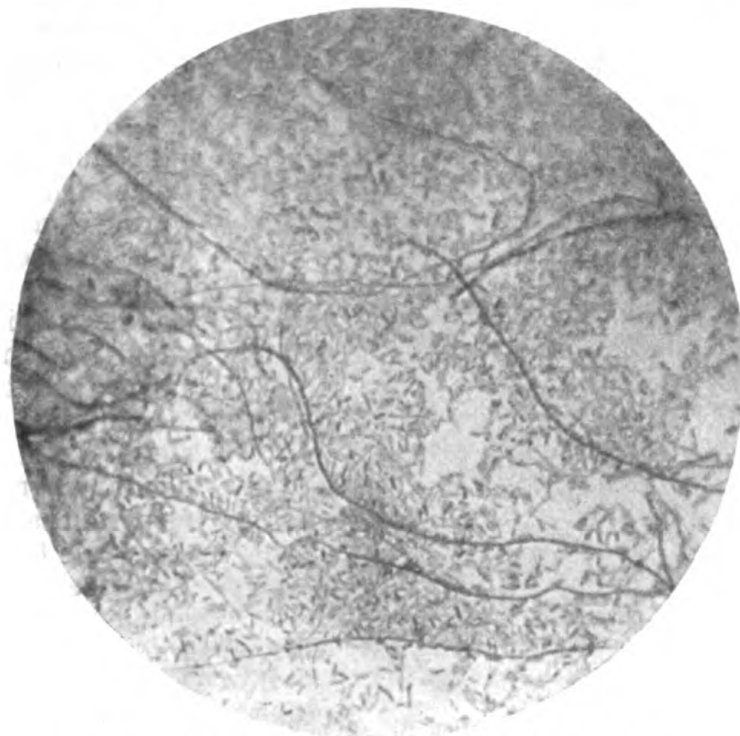


Fig. 3. Scheinfädenbildung in einer Reinkultur.

erscheinungen zeigten, verwendete Gans 4 nach 2, Gans 3 nach 4 Tagen, nachdem sie vorher apathisch im Käfig gesessen hatten, beim Auftreiben hin und her taumelten und auf die Seite fielen. Die Obduktion ergab im wesentlichen einen gleichen Befund wie bei den Gänsen 1 und 2, von denen das Infektionsmaterial stammte: Fibrinöse Auflagerungen auf der Leber und den Darmschlingen, fibrinöse Herzbeutelentzündung und leichte Darmentzündung. In Ausstrichen aus dem Herzblut, der Pericardialflüssigkeit und den Fibrinmassen fanden sich die bekannten Stäbchen in großer Zahl vor. Aus dem Herzblut wurden Kulturen auf Taubenblutagar und auf gewöhnlichem Agar angelegt. Während auf letzterem erst nach 36 Stunden auf den mit viel Blut beschickten

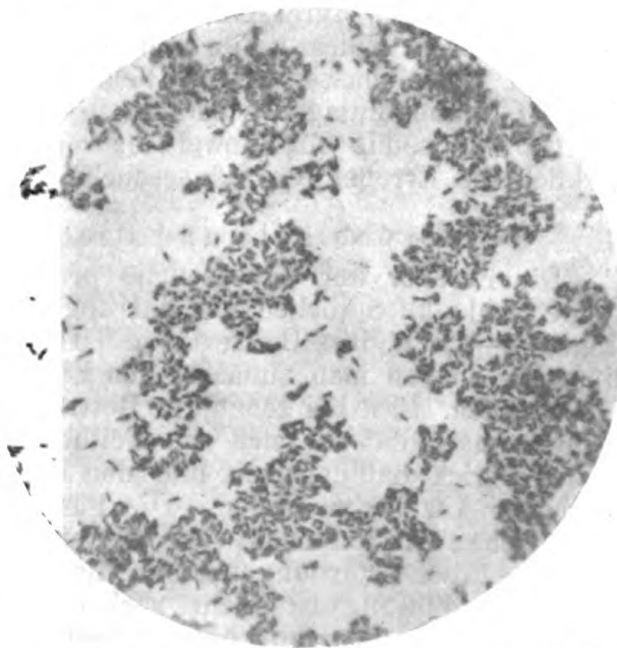


Fig. 4. Influenzabacillen (R. Pfeiffer), Reinkultur.

Aus dem Herzblut wurden Kulturen auf Taubenblutagar und auf gewöhnlichem Agar angelegt. Während auf letzterem erst nach 36 Stunden auf den mit viel Blut beschickten

Röhrchen ein mäßiges Wachstum eintrat, entwickelte sich auf dem Taubenblutagar ein üppiger, gelblichweißer Rasen. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß es sich um Reinkulturen der bekannten Stäbchen handelte. Ein Fortzüchten der Kulturen auf gewöhnlichem Agar gelang

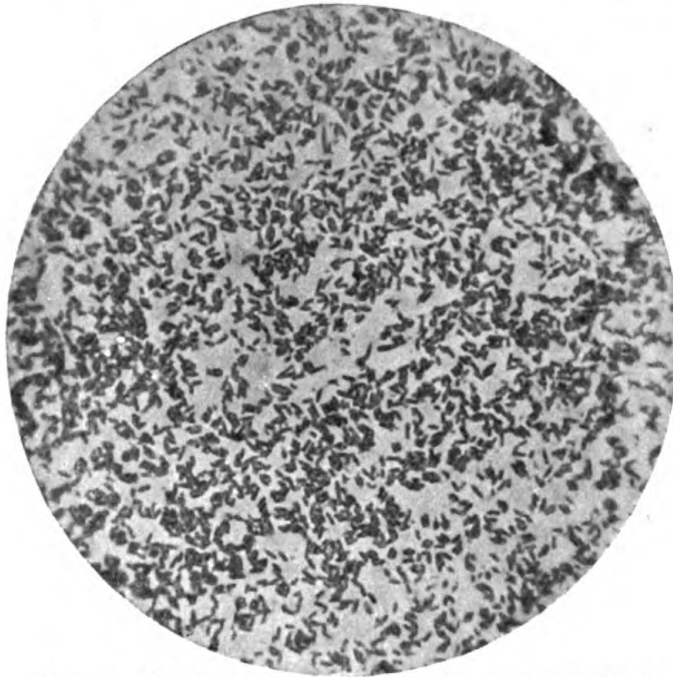


Fig. 5. Pseudoinfluenzabacillen der Brustseuche des Kaninchens (Beck).

wiederum nicht, wohl aber auf Taubenblutagar. Mit einer Oese der aus dem Herzblut von Gans 4 auf Taubenblutagar gezüchteten Reinkultur wurde Gans 7 intramuskulär infiziert und verendete nach 48 Stunden. Bei der Sektion fand sich das Unterhautgewebe sulzig infiltriert. Die Muskulatur der Impfstelle war in großer Ausdehnung grauweiß verfärbt und sah wie gekocht aus. Die Oberfläche der Leber zeigte keinen spiegelnden Glanz, sondern war infolge dünnster Fibrinauflagerungen rau und trübe. Die Darm-schleimhaut erschien geschwollen und mit zahl-

reichen Blutungen durchsetzt. Im Herzbeutel fand sich ein seröses Exsudat, auf dem Epicard Fibrinauflagerungen. In Ausstrichen aus dem Herzblut waren massenhaft die bekannten Stäbchen sichtbar, sie ließen sich auf Taubenblutagar wiederum in Reinkultur züchten.

Es war somit der Beweis erbracht, daß die fraglichen Stäbchen wirklich die Erreger der Gänse-seuche waren.

Morphologie und Biologie des Erregers.

Die Erreger der Gänse-seuche präsentieren sich im Tierkörper als kleine, schlanke Stäbchen mit gut abgerundeten Enden. Ihre Länge beträgt 0,5—1,5 μ , ihre Breite 0,5 μ . Häufig liegen sie zu zweien hintereinander, so daß man zunächst den Eindruck erhält, es handle sich um Diplokokken. Erst bei genauerer Betrachtung mit stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß es sich um Teilungsformen handelt. Im Herzblut, in der Pericardialflüssigkeit und den Fibrinauflagerungen sind sie immer in großer Anzahl zu finden. Die Färbung gelingt leicht mit allen gebräuchlichen Anilinfarben, am besten mit verdünntem Karbolfuchsin. Die Gramsche Färbung nehmen die Bacillen nicht an, Eigenbewegung und Sporenbildung ist nicht vorhanden. Die Züchtung der Erreger gelang zunächst nur auf hämoglobinhaltigen Nährböden. Auf schwach alkalischem Agar und in Bouillon trat ein Wachstum nur in der ersten Generation aus dem Tierkörper und auch nur dann ein, wenn viel Blut beim Anlegen der Kulturen auf den Nährboden gebracht worden war. Der Versuch der Fortzüchtung der Kulturen auf gewöhnlichem Agar in der zweiten Generation schlug fehl. Auf Taubenblutagar trat dagegen

ein ziemlich üppiges Wachstum ein. Nachdem die Stäbchen hierauf in mehreren Generationen fortgezüchtet waren, blieb auch auf diesem Nährboden das Wachstum sowohl beim Anlegen der Kulturen aus dem Tierkörper als auch beim Weiterimpfen von Kultur zu Kultur ohne ersichtlichen Grund aus, obwohl die Zusammensetzung und besonders die Alkaleszenz des Agars genau kontrolliert wurden. Nach langwierigen Bemühungen, einen geeigneten Nährboden zu finden, gelang uns schließlich die fortlaufende Züchtung der Bacillen auf einem in folgender Weise hergestellten Blutagar: Defibriniertes Pferdeblut wird zu gleichen Teilen zum Zwecke der Auflösung des Hämoglobins mit destilliertem Wasser versetzt. Von dieser Auflösung wird etwa 1 ccm in ein verflüssigtes und auf ca. 50° C abgekühltes Röhrchen gewöhnlichen, schwach alkalischen

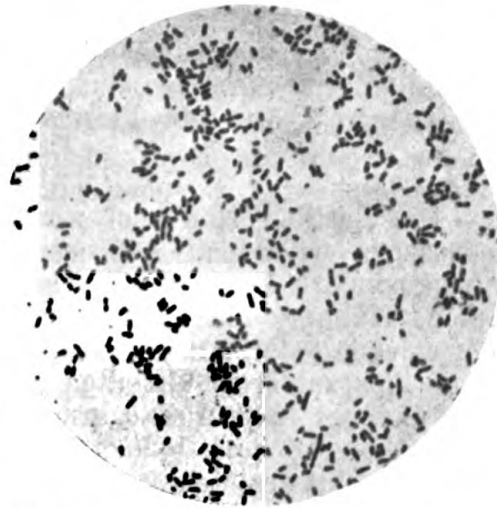


Fig. 6. *Bacillus haemoglobinophilus canis* (Friedberger).

Agars gebracht und durch Hin- und Herbewegen gleichmäßig verteilt. Dieser Blutagar wird dann einer fraktionierten Sterilisation bei 70° C während 3 Tagen unterworfen. Auf diesem Nährboden bildeten die Bacillen einen grauweißen, üppigen Belag. In Ausstrichen aus den Reinkulturen erscheinen die Stäbchen etwas länger und dicker als im Tierkörper, sehr häufig findet ein Auswachsen zu langen Scheinfäden statt (cf. Abbildung 3). Nachdem die Erreger auf dem beschriebenen Blutagar etwa 2 Monate lang bis zu 20 Generationen fortgezüchtet waren, zeigte es sich, daß sie nunmehr auch auf gewöhnlichem Agar und anderen Nährböden ohne Hämoglobinzusatz wuchsen und fortgezüchtet werden konnten. Das Verhalten der Bacillen auf den verschiedenen Nährböden gestaltete sich jetzt folgendermaßen:

Auf gewöhnlichem schwach alkalischen Agar bildet sich in 24 bis 36 Stunden ein üppiger, grauweißer, in älteren Kulturen bräunlich gelb werdender Belag. Das Kondenswasser ist getrübt und zeigt einen ziemlich starken Bodensatz. Das Temperaturoptimum beträgt 37—38° C. Auf saurem Agar tritt ein Wachstum nicht ein. Die Lebensdauer der Kulturen ist nur eine beschränkte. Bei Aufenthalt in Zimmertemperatur gelingt ein Ueberimpfen nach 14 Tagen, manchmal auch schon früher, nicht mehr, im Brutschrank sind die Kulturen meistens schon nach 8 Tagen abgestorben. Es hängt dies offenbar mit einem auf künstlichen Nährböden sehr schnell eintretenden Zerfall der Bakterien zusammen. In Ausstrichen aus einige Tage alten Agarkulturen sieht man nämlich vorwiegend rundliche, kokkenartige Gebilde, die Zerfallsprodukte der Bacillen darstellen, neben wenigen, gut erhaltenen Stäbchen. In Bouillon entsteht eine schwache, gleichmäßige Trübung, nach einigen Tagen zeigt sich ein geringer Bodensatz, der beim Schütteln zopfartig aufgewirbelt wird, ähnlich wie bei Rotlaufbouillonkulturen. Indolbildung haben wir nicht nachweisen können. In Gelatinestichkulturen bei + 21° findet man ein spärliches, nicht charakteristisches Wachstum in der Nähe des Impfstiches und auf der Oberfläche der Gelatine. Nach einiger Zeit

tritt eine langsame, trichterförmige Verflüssigung des Nährbodens ein. Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon wird gleichmäßig getrübt, Gasbildung als Zeichen der Vergärung tritt nicht ein. Lackmusmolke und Milch bleiben unverändert. Auf Löffler- und gewöhnlichem Serum findet ein üppiges Wachstum in Gestalt eines weißgelblichen Belages statt. Auf Kartoffeln sieht man nach 24—48 Stunden einen dünnen, feuchtglänzenden, weißgelblichen, später mehr bräunlich werdenden Belag. Drigalski-Conradi-Platten lassen ein Wachstum nicht erkennen.

Pathogenität.

Die Bacillen sind nach unseren Feststellungen nur für Gänse ausgesprochen pathogen. Am besten gelingt bei ihnen die Infektion durch intramuskuläre Verimpfung. Kaninchen, graue und bunte Ratten, Mäuse, Enten, Hühner und Tauben erwiesen sich als refraktär. Ein Meerschweinchen starb nach intraperitonealer Verimpfung einer größeren Menge des zahlreiche Bacillen enthaltenden Herzblutes einer Gans nach 24 Stunden. Im Peritonealexsudat fanden sich die Stäbchen in mäßiger Menge, hauptsächlich jedoch innerhalb von Phagocyten liegend, vor. Aus dem Herzblut des Meerschweinchens wuchs eine Reinkultur von Staphylokokken, während sich aus dem Peritoneum neben einigen Staphylokokkenkolonien das Stäbchen züchten ließ. Es ist hiernach wohl anzunehmen, daß ohne die zufällige Infektion mit Staphylokokken das Tier mit dem Leben davongekommen wäre, um so mehr als ein gleichzeitig mit derselben Menge intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen nicht erkrankte. 2 Meerschweinchen, die mit der Abschwemmung von je einer Agarkultur intraperitoneal infiziert wurden, starben innerhalb von 24 Stunden. In dem Exsudat der Bauchhöhle fanden sich die Stäbchen fast ausschließlich von Phagocyten aufgenommen vor. Das noch während des Lebens mittels Kapillaren mehrfach entnommene Exsudat der Bauchhöhle zeigte bei der mikroskopischen Untersuchung eine ständig zunehmende Abnahme der Bacillen, sowie einen Zerfall derselben. Die intraperitoneale Infektion mit kleineren Mengen (1—3 Oesen) überstanden die Meerschweinchen ohne Krankheitserscheinungen. Bei Kaninchen versagte auch die intravenöse Injektion großer Dosen Kultur (1—2 Agarkulturen). Der Versuch, eine ausgewachsene Gans durch Verfütterung erheblicher Quantitäten der zahlreiche Bacillen enthaltenden Organe einer künstlich infizierten und verendeten Gans krank zu machen, schlug fehl. An jungen Gänsen, die wahrscheinlich weniger widerstandsfähig sein dürften, konnten wir wegen der Unmöglichkeit, solche zu beschaffen, keine Infektionsversuche anstellen. Die Virulenz der Kulturen schwächt sich, wenn nicht regelmäßig Passagen durch Gänse erfolgen, ziemlich bald ab. Mit Kulturen, die 2 Monate lang auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet waren, konnte eine Infektion trotz Verimpfung einer ganzen Agarkultur nicht mehr bewerkstelligt werden.

Frühere Funde der Bacillen und Beschreibung der durch sie hervorgerufenen Gänseseuche.

Bei Durchsicht der Literatur fanden wir, daß der von uns als Erreger einer Gänseseuche gezüchtete Bacillus zuerst von Riemer (1) im Jahre 1904 gelegentlich einer Gänseseuche in Mecklenburg gefunden und als *Bac. septicaemiae anserum exsudativae* beschrieben worden ist. Die Beschreibung Riemers stimmt mit der unserigen durchaus überein, nur gelang ihm die Kultur der Stäbchen sofort

auf gewöhnlichen Nährböden, wenn auch zunächst kein sehr üppiges Wachstum in den ersten Generationen erfolgte. Die von uns beobachtete anfängliche Hämophilie der Erreger zeigte der Riemersche Bacillus nicht. Ferner konnte Riemer in 2 von 5 Impfversuchen auch Enten mit dem Bacillus infizieren. Der negative Verlauf unserer Infektionsversuche an nur zwei Enten ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß die Impfungen an alten, ausgewachsenen Tieren und mit einer schon längere Zeit fortgezüchteten und infolgedessen avirulent gewordenen Kultur erfolgten. Trotz dieser Unterschiede hegen wir hinsichtlich der Identität des Riemerschen Bacillus mit dem von uns beschriebenen keinerlei Zweifel.

Als „ansteckende Luftsackentzündung der Gänse“ ist später von Bugge (2), der die Riemersche Arbeit nicht erwähnt, sich auch über die Frage der Identität nicht ausspricht, eine Gänseseuche in Schleswig-Holstein und deren Erreger beschrieben worden, die sehr wahrscheinlich mit der von Riemer und uns beobachteten identisch ist. Bugge gelang eine Kultur auf gewöhnlichem Agar nicht, wohl aber auf Pflaumen-, Serum-, Blutextrakt- und Milch-Agar, sowie auf gewöhnlichem Serum.

Eine genauere Beschreibung der biologischen Eigenschaften der Erreger gibt Bugge nicht.

Klassifizierung des Bacillus.

Hinsichtlich der Klassifizierung des *Bac. septicaemiae anserum exsudativae* neigen wir der Ansicht zu, daß er auf Grund seiner morphologischen und biologischen Eigenschaften zur Gruppe des Influenzabacillus gerechnet werden muß. Insbesondere sprechen hierfür seine kleine, dem menschlichen Influenzabacillus außerordentlich ähnliche Gestalt, seine Neigung zur Bildung längerer Scheinfäden in älteren Kulturen und späteren Generationen und die auf nur eine Tierart beschränkte Pathogenität, endlich die kurze Lebensdauer der Kulturen. Das Vorkommen von pathogenen Bacillen aus dieser Gruppe ist bei Tieren schon öfters beobachtet worden. So fanden Beck (3) und ebenso Kraus (4), ferner Kurita (5) bei der Brustseuche der Kaninchen, Friedberger (6) im Präputialausfluß bei Hunden, Wolff (7) in dem eitrigen Bronchialschleim einer Ratte Bakterien, die von ihnen der Gruppe der Pseudoinfluenzabacillen zugerechnet werden und in ihrem morphologischen und biologischen Verhalten mit dem von uns beobachteten Stäbchen viele Ähnlichkeit haben. Der von Frank (8) in einem Abszeß beim Schwein gefundene Bacillus, der von ihm ebenfalls als zur Pseudoinfluenzagruppe gehörig angesprochen wird, ist wohl, wie schon Friedberger und Wolff (l. c.) bemerken, nicht hierher zu rechnen. Pseudoinfluenzabacillen beim Menschen sind von Pfeiffer (9) bei Bronchitiden und Bronchopneumonien, von Kossel (10) und Hartmann (11) bei Mittelohreiterungen, von Beck (12) in dem Nasen- und Rachensekret in 2 Fällen von Typhus exanthematicus, von Jochmann und Krause (13), Czaplewski und Hensel (14), Elmassian (15), Spengler (16), Bordet und Gengou (17), sowie von Klimenko (18) beim Keuchhusten gefunden und beschrieben worden. Die Gruppe der Pseudoinfluenzabacillen ist somit eine ziemlich große, ihre Angehörigen finden sich sowohl beim Menschen wie bei den verschiedensten Tieren. Die Tatsache, daß eine solche Gruppe der Influenzabacillen existiert, ähnlich wie wir von einer Gruppe der Coli-Bacillen, der Diphtheriebacillen, der Tuberkulose u. a. sprechen, zwingt zu einer strengeren Unterscheidung

derjenigen Bacillen, die auf den ersten Blick mit dem Erreger der menschlichen Influenza, dem R. Pfeifferschen Influenzabacillus verwechselt werden könnten. Wenn sich gelegentlich bei Krankheiten des Menschen, z. B. Bronchopneumonie, die mit Influenza nichts zu tun haben, und in influenzafreien Zeiten Bacillen fanden, die mit den Influenzabacillen in ihrem Aussehen und Verhalten durchaus übereinstimmen, so ist damit die Spezifität des Pfeifferschen Bacillus für die Influenza noch keineswegs in Frage gestellt. Denn Größe und Form der gefundenen Stäbchen, sowie ihre Hämophilie sind als alleinige Kriterien für ihre Identifizierung mit dem Influenzabacillus nicht ausreichend. Vielmehr wird man der spezifischen Pathogenität ebenfalls einen diagnostischen Wert zuerkennen müssen. Die oben erwähnten Funde beweisen eben, daß eine größere Zahl von Bacillen bei Menschen und Tieren vorkommt, die mit den Pfeifferschen Influenzabacillen wohl äußerlich und auch in ihrem Verhalten auf Nährböden übereinstimmen. Bei einem Teil derselben ist jedoch schon jetzt zum Teil durch die pathogenen Eigenschaften eine deutliche Differenzierung gegenüber den echten Influenzabacillen möglich. Vielleicht gelingt es mit Hilfe besonderer Untersuchungsmethoden auch die übrigen influenzaähnlichen Stäbchen beim Menschen deutlich von dem Pfeifferschen Bacillus zu trennen.

Literatur.

- 1) Riemer, Kurze Mitteilung über eine bei Gänsen beobachtete exsudative Septikämie und deren Erreger. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 37. p. 741.)
- 2) Bugge, Ansteckende Luftsackentzündung der Gänse. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. d. Haustiere. Bd. 3. Heft 5. p. 470.)
- 3) Beck, Der Bacillus der Brustseuche beim Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 15. 1893. p. 363.)
- 4) Kraus, Ueber den Erreger einer influenzaähnlichen Kaninchenseuche. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 24. 1897.)
- 5) Kurita, Ueber den Brustseuchebacillus des Kaninchens. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 49. Heft 4. p. 508.)
- 6) Friedberger, Ueber ein neues zur Gruppe des Influenzabacillus gehöriges hämoglobophilos Bakterium (*Bac. haemoglobinophilus canis*). (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 33. p. 401.)
- 7) Wolff, Ueber einen beim Tier gefundenen influenzaähnlichen Bacillus. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 33. p. 407.)
- 8) Frank, Ueber einen neuen Bacillus aus der Gruppe der Influenzabacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 40. 1902.)
- 9) Pfeiffer, Die Aetiologie der Influenza. (Ebendort. Bd. 13. 1893.)
- 10) Kossel, Ueber Mittelohreiterungen bei Säuglingen. (Charité-Annalen. Jahrg. 18. 1893.)
- 11) Hartmann, Die Mittelohreiterung der Säuglinge. (Dtsch. med. Wochenschr. 1894. No. 26.)
- 12) Beck, Influenza. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann.)
- 13) Jochmann und Krause, Zur Aetiologie des Keuchhustens. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 26. 1901.)
- 14) Czaplewski und Hensel, Bakteriologische Untersuchungen über Keuchhusten. (Wiener med. Wochenschr. 1888.)
- 15) Elmassian, Note sur un bacille des voies respiratoires et ses rapports avec le bacille de Pfeiffer. (Annales Pasteur. 1899.)
- 16) Spengler, Bakteriologische Bemerkungen über Keuchhusten. (Dtsch. med. Wochenschr. 1897. No. 52.)
- 17) Bordet et Gengou, Le microbe de la coqueluche. (Bull. de l'acad. royale de méd. de Belgique. T. 20. p. 612, u. Annales de l'Institut. Pasteur. T. 21.)
- 18) Klimenko, Die Aetiologie des Keuchhustens. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 64.)

Nachdruck verboten.

Die Resultate der Versuche zur rationellen Rattenvertilgung vermitteltst Präparate des Laboratoriums.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium „Ratin“ in Kopenhagen.]

Von **L. Bahr**, Laboratoriumsvorsteher.

Im Centralblatt für Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905 (1) berichtete ich über verschiedene Untersuchungen bezüglich der zur Vertilgung von Ratten und Mäusen hergestellten Bakterienkulturen, u. a. auch über die in dem Bakteriologischen Laboratorium „Ratin“ in Kopenhagen hergestellte Bakterienkultur „Ratin“. Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß die Ratinbakterie sowie verschiedene andere rattenvertilgende Bakterien und Loefflers Mäusetyphusbacillus zur Coli-Typhusgruppe gehören und eine besondere Gruppe innerhalb der Paracolibacillen zu bilden schienen. Spätere Untersuchungen [Raebiger-Schwinning (2), Trautmann (3), Xylander (4) etc.] haben im großen und ganzen die Richtigkeit hiervon bestätigt, nur haben die letztgenannten Forscher (3, 4) eine etwas abweichende Auffassung bezüglich der Klassifikation, und zwar wesentlich aus dem Grunde, weil sie der Agglutinationsprobe eine größere Bedeutung beigemessen haben, als ihr wahrscheinlich in Wirklichkeit gebührt. Ich will an dieser Stelle nicht näher hierauf eingehen, da diesbezügliche Untersuchungen in diesem Jahre angestellt worden sind, und wird das Resultat später in einem Artikel, der die ganze Paracoligruppe (nämlich die sogenannte Paratyphus-B-Gruppe und Fleischvergiftungsgruppe) zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung macht, veröffentlicht werden.

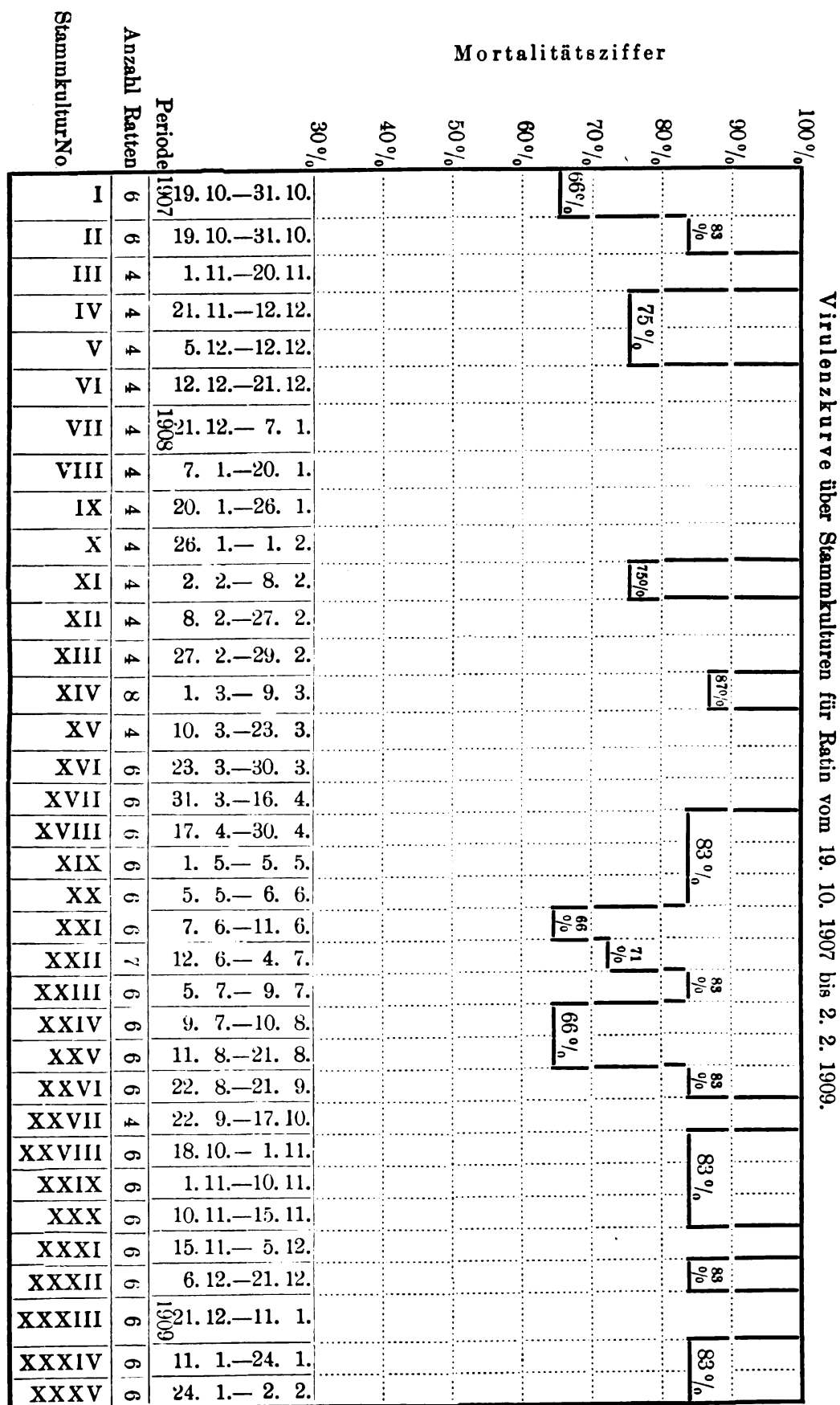
In dem obengenannten Artikel wurden ferner verschiedene Untersuchungen über die Empfänglichkeit der Ratten der Ratinkultur gegenüber angeführt, und als Resultat ergab sich, „daß die Empfänglichkeit der Ratten der Infektion gegenüber an den verschiedenen Stellen verschieden war“, und zwar nicht allein derart, daß beispielsweise die Empfänglichkeit bei der schwarzen Ratte (*Mus rattus*) und der ägyptischen Ratte (*Mus alexandrinus*) eine geringere war als bei der Wanderratte (*Mus decumanus*), sondern auch dergestalt, daß *Mus decumanus*, an verschiedenen Stellen eingefangen, sich verschieden empfänglich erwies. Das Sterblichkeitsprozent der Fütterungsinfektion mit Ratinkultur gegenüber war daher verschieden, was auch die an verschiedenen Stellen angestellten Versuche [Raebiger und Schwinning (Halle a. S.) (2), Bergmann (Malmö) (5), A. A. Wladimiroff (St. Petersburg) (6), van t' Hoff und P. Wedda (Rotterdam) (7), Trautmann (Hamburg) (3), Xylander (4)] u. a. vollauf bestätigt haben.

Bronstein (8) hatte übrigens schon früher die Aufmerksamkeit auf diesen Umstand gelenkt, indem seine Versuche mit Danysz-Kultur ähnliche Resultate zeigten. Die Ursache dieser verschiedenen Empfänglichkeit bei den Ratten ist noch immer nicht genügend aufgeklärt. Trautmann (3) gelangte zu dem Resultate, daß sie auf erworbene Immunität zurückgeführt werden müßte, so daß man, selbst bei Anwendung einer hochvirulenten Bakterienkultur, nur mit einem

Sterblichkeitsprozent von etwa 50 Proz. rechnen könnte. Er glaubte, im Blute der unempfindlichen Ratten spezifische schützende Elemente gefunden zu haben, was durch die von Xylander (4) vorgenommenen Versuche später bestätigt wurde.

Hierdurch wird jedoch das Verhältnis nicht völlig klargelegt, indem man nur schwer dem Gedanken Raum geben kann, daß beispielsweise zahme Ratten (weiße und bunte), denen keine Gelegenheit zur Aufnahme dieser oder jener nahestehenden Bakterien gegeben wird, spezifische Schutzstoffe im Blute gebildet haben sollten, welche die Bakterien daran hindern, ihre Wirkung zu betätigen. Einige von mir mit zahmen Ratten (weißen und bunten) angestellte Versuche zeigen, daß man auch zahme Rattenstämme haben kann, die ganz oder teilweise der Ratinkultur gegenüber unempfindlich sind, während andere Stämme ein hohes Empfänglichkeitsprozent aufweisen. So habe ich z. B. im Laboratorium zwei bunte Rattenstämme, von denen der eine von einem Rattenpaare aus dem Stamme herrührte, der in der bakteriologischen Abteilung des Versuchslaboratoriums in Kopenhagen gezüchtet wurde, während der andere von einer kleinen Insel „Deget“ (einer unbewohnten Insel in der Nähe von Frederikshavn im nördlichen Jütland) bezogen worden war, woselbst sich ein Paar verwilderte zahme Ratten sehr kräftig vermehrt hatte. Andere Ratten waren auf der Insel nicht vorhanden. Ein Paar von diesen hatte sich im Laboratorium vermehrt, und die Versuche wurden mit den Jungen vorgenommen. Während der erste Stamm sich für Fütterungsversuche mit Ratinkultur als sehr empfindlich (Mortalität ca. 80) erwies, war der zweite völlig unempfindlich. In dem letztgenannten Falle hat man es ohne Zweifel mit einem Beispiel angeborener Immunität der Ratinbacillenkultur gegenüber zu tun. Bei den im Freien lebenden Ratten muß man daher neben der erworbenen Immunität zweifellos auch mit der angeborenen rechnen. Andererseits zeigen jedoch Versuche, daß die Jungen immuner Eltern nicht unbedingt Unempfindlichkeit erben, da Versuche mit Jungen, die von Ratten mit scheinbar angeborener Immunität stammen, dargetan haben, daß die Jungen durchschnittlich ebenso empfindlich waren, wie eine entsprechende Anzahl willkürlich ausgewählter Ratten. Individuelle Eigentümlichkeiten machen es jedenfalls unmöglich, eine bestimmte Regel aufzustellen, sofern sich der Stamm nicht absolut unempfindlich erwiesen hat.

Während somit diese Frage noch als ungelöst betrachtet werden kann, ist es klar, daß man in der Praxis mit einem Prozentteil unempfindlicher Ratten zu rechnen hat; wie groß der Prozentsatz ist, dürfte aber schwer festzustellen sein, indem viele verschiedene Momente hier mitsprechen. Die Versuche, welche im Laufe der letzten 5 Jahre im bakteriologischen Laboratorium „Ratin“ mit wilden Ratten (von verschiedenen Gegenden Dänemarks, Schwedens und Norwegens) vorgenommen worden sind, und die ein Material von ca. 5000 Ratten umfassen, haben gezeigt, daß, während Ratten an einigen Stellen ganz oder nahezu vollkommen unempfindlich sind, Ratten an anderen Stellen ein Empfänglichkeitsprozent von 10 Proz. bis ca. 100 Proz. aufwiesen. Praktisch gesprochen, heißt dieses — was ich bereits im Jahre 1904 hervorhob — daß man nicht in allen Gegenden die gleichen Resultate von den Bakterienkulturen erwarten kann, selbst wenn diese eine hohe Virulenz besitzen.



Was die Virulenz anbetrifft, so ist diese ja in hohem Grade inkonstant, wenn die gewöhnlichen bakteriologischen Methoden benutzt werden. Für die Versuche, die angestellt wurden und die den Zweck verfolgten, die Empfänglichkeit der verschiedenen Rattenarten zu untersuchen, mußten daher die konstantesten Kulturen verwandt werden, die sich überhaupt herstellen lassen, sonst arbeitet man mit zwei unbekannten Größen und kann keine Schlüsse ziehen. Für die von uns angestellten Versuche, die sich über einen längeren Zeitraum erstreckt haben, sind Stammkulturen zur Verwendung gelangt, die durchschnittlich eine Mortalitätsziffer von ca. 80 Proz. gegenüber im Freien lebenden Ratten hatten. Es würde zu weit führen, sie sämtlich anzugeben, doch geht aus vorstehender Kurve hervor, wie groß die Virulenzschwankungen gewesen sind. Infolge der Schwierigkeiten, sich genügende Rattenmengen zu verschaffen, sind für jeden Versuch nur 4—8 Ratten (in der Regel jedoch 6 Ratten) zur Verwendung gelangt.

Selbst wenn Virulenzschwankungen vorhanden gewesen und infolge der verhältnismäßig geringen Anzahl von Ratten Fehlerquellen anderer Art vorgekommen sind, zeigt sich doch aus den Kurven, daß die Kulturen verhältnismäßig konstant und für die vergleichenden Versuche verwendbar gewesen sind, so daß man die vorgenannten Schlüsse hieraus hat ziehen können. Die Versuche, welche in der Praxis angestellt wurden, haben Resultate ergeben, die sehr gut mit den Laboratorienversuchen übereinstimmen.

Durch freundliches Entgegenkommen verschiedener Versuchsorte in Dänemark und Schweden glückte es im Jahre 1904, im ganzen 34 größere und kleinere, von Ratten heimgesuchte Gegenden zu finden, in denen rationelles Auslegen der Bakterienkultur „Ratin“ vorgenommen wurde. An allen diesen Stellen war man durch Ratten geplagt, d. h. diese Nagetiere waren in so großen Mengen vorhanden, daß sie den Bewohnern lästig wurden. Man wählte einigermaßen isoliert gelegene Stellen, da ein späterer Zulauf von Ratten von wo andersher das Resultat nicht ungenau machen sollte. Wenn nun auch die meisten Stellen dieser Bedingung entsprachen, waren doch einige Plätze so gelegen, daß ein Zulauf in Betracht kommen könnte. Die Versuche sowie deren Resultate sind in den Nummern 25 und 26 der Zeitschrift „Ugeskrift for Landmænd“ (Wochenschrift für Landwirte). Jahrgang 1906 (9), veröffentlicht. Die Versuche standen teilweise unter Leitung vom Laboratorium ausgesandter Assistenten, während einzelne Versuchsstellen selbst das Auslegen der Kultur nach Anweisung des Laboratoriums vornahmen. Die Versuchsstellen standen während eines Zeitraumes von $\frac{1}{2}$ —1 Jahr, einzelne sogar von $1\frac{1}{2}$ —2 Jahren, unter Beobachtung. Ursprünglich lag es in der Absicht des Laboratoriums, zur gleichen Zeit Kontrollversuche mit Ratten anzustellen, die vor dem Beginne des Versuches eingefangen waren, indessen mußten diese Versuche, da es nicht glücken wollte, ein größeres Rattenmaterial zur Stelle zu schaffen, aufgegeben werden.

Die Fragen, welche das Laboratorium nach Beendigung des Versuches den Versuchsstellen unterbreitete, lauten, wie folgt:

- 1) Wie lange Zeit hat der Ort an der Rattenplage gelitten, und in wie hohem Grade?
- 2) Welche Mittel sind vor Anwendung des Ratins benutzt worden, und mit welchem Resultate?
- 3) Wie stellt sich das Resultat der seitens des Laboratoriums vorgenommenen rationellen Vertilgung vermittelst der Ratinkultur?

- 4) Haben die Ratten die Kultur gern gefressen?
- 5) Sind Krankheitsfälle unter den Haustieren in Verbindung mit dem Auslegen der Kultur wahrgenommen worden?

- 6) Hat man von den toten Ratten einen Verwesungsgeruch gespürt?

Was die Versuchsstellen anbetrifft, so waren darunter 17 Rittergüter, 7 Güter, 1 Dorf, 2 landwirtschaftliche Schulen, 2 Mühlen, 2 Kavalleriekasernen, 1 städtische Müllabfuhrstätte, 1 Lumpenfabrik sowie 1 Hufe.

In bezug auf Frage 3 antworteten die Versuchsstellen, daß an 28 Stellen (von 34) — demnach etwa 82 Proz. — befriedigende Resultate (und zwar dergestalt, daß die Rattenplage aufhörte) erzielt wurden, während man an den 6 übrigen Stellen keine Wirkung gespürt hatte. An 25 Versuchsstellen wurden während der Versuchsdauer kranke und tote Ratten wahrgenommen, jedoch nur in 4 Fällen in erheblicher Menge. An 6 Stellen hatte man weder tote noch kranke Ratten gesehen, und von 3 Stellen ging keine Antwort auf die diesbezügliche Anfrage ein. In keinem einzigen Falle hat man etwas vom Krankwerden der Haustiere gemerkt als Folge des Auslegens der Bakterienkultur, obgleich z. B. von einzelnen Auslegungsstationen die Beobachtung gemacht worden war, daß Hunde von der Kultur gefressen hatten. Auf einer Mühle starben während der Versuchsdauer einige Hühner, es zeigte sich aber, daß die Todesursache auf Sarkomatose zurückzuführen war. Nur an zwei Stellen merkte man den Geruch verendeter Ratten.

Diese im Jahre 1906 abgeschlossenen Versuche zeigten demnach, daß es selbst mit einer möglichst konstanten Bakterienkultur nicht möglich war, an allen Stellen günstige Resultate zu erzielen, und nur an einigen Stellen wurde eine vollkommene Vertilgung der Ratten erzielt. Nachdem diese Erfahrungen gemacht waren, wurde die Arbeit nach einer etwas anderen Richtung hin fortgesetzt, indem das Laboratorium bei Untersuchung der Ratten, die von selbst gestorben waren, nach anderen Bakterien suchte, die sich eventuell mit Ratin zusammen oder allein zur Erhöhung des durchschnittlichen Sterblichkeitsprozents anwenden ließen, doch glückte dieses nicht. Es wurden daher Versuche angestellt, die den Zweck hatten, ein Ergänzungspräparat herzustellen, daß an solchen Stellen angewandt werden könnte, wo vorheriges Auslegen der Ratinkultur eine zu geringe Verminderung der Rattenmenge herbeigeführt hatte, und ferner um dazu zu dienen, eine völlige Vertilgung an solchen Stellen herbeizuführen, wo die Ratinkultur zwar ein befriedigendes Resultat, jedoch keine völlige Vernichtung der Ratten zur Folge gehabt hatte.

Ein derartiges Ergänzungspräparat müßte zunächst tödlich auf Ratten einwirken, die für die Ratinkultur unempfindlich sind, aber auch gleichzeitig in der Form und Menge, in welcher es zur Anwendung gelangt, für die Haustiere unschädlich sein; endlich müßte es so hergestellt werden, daß die Ratten es gern fraßen. Es glückte, im „Ratin II“ und im „Ratinin“ (einer flüssigen Form von „Ratin II“, das an einzelnen Stellen lieber von den Ratten gefressen wird) derartige Ergänzungspräparate zu schaffen. Diese beiden Präparate enthalten toxische Substanzen, und können praktisch als unschädlich für Haustiere erachtet werden. Anfänglich enthielten die Präparate nur eine verhältnismäßig geringe Menge von den toxischen Substanzen, und der Ratinbacillus, der darauf ausgesät wurde, vermochte durch das

Substrat zu wachsen. Mit dem Aussäen des Ratinbacillus auf das toxische Substrat wurde beabsichtigt, diejenigen Ratten, die zu wenig von dem toxischen Substrat aufgenommen hatten und somit nicht an den Wirkungen des toxischen Substrates starben, während des Siechtums, das eine Folge des toxischen Substrates war, in dem Grade zu schwächen, daß die Ratinbacillen jetzt ihre Wirkung ausüben konnten.

Angestellte Versuche bestätigten dieses, indem man die Beobachtung machte, daß immune Ratten, denen nur die Hälfte des Quantums des Ergänzungspräparates eingegeben wurde, das zum Hervorrufen des Toxintodes nötig war, infolge der Ratininfektion starben; aus den Organen solcher Ratten ließen sich die Ratinbacillen züchten. Später vorgenommene Versuche, ebenso wie die praktischen Versuche zeigten jedoch, daß es vorteilhafter war, ein Ergänzungspräparat zu besitzen, daß eine größere Menge toxischer Substanzen enthielt, dergestalt, daß die toxische Wirkung die Hauptrolle bildete, die Bakterienwirkung dagegen nur eine Nebenwirkung. Das Laboratorium schritt nun zur Herstellung der Ergänzungspräparate von größerem Gehalt an toxischen Substanzen, um eine konstantere Wirkung zu erzielen. Bei der Benutzung von Substraten mit vermehrtem Gehalte an toxischen Substanzen erwies es sich, daß der Ratinbacillus nicht mehr imstande war, darauf zu wachsen, weswegen die Bouillonkultur mit dem toxischen Substrate vermischt wurde, da man noch immer meinte, von dem Nutzen nicht absehen zu dürfen, den die Bakterienkultur eventuell in solchen Fällen haben könnte, wo die Ratten zu geringe Mengen des Präparates, die zur Auslösung einer reinen toxischen Wirkung erforderlich waren, zu sich nahmen. Als endlich noch spätere Versuche ergaben, daß die Bacillen oft im Laufe kürzerer oder längerer Zeit zugrunde gehen, vermutlich infolge des ständig wirkenden Einflusses des toxischen Substrates, schritt man vor ca. $\frac{1}{2}$ Jahre versuchsweise zur Herstellung reiner toxischer Präparate als Ergänzungspräparate, und da die Versuche in der Praxis mit diesen letzteren gezeigt hatten, daß die Bakterienwirkung in den besagten Fällen von außerordentlich geringer Bedeutung ist, ist das Laboratorium zur Herstellung reiner toxischer Präparate als Ergänzungsmittel zur Bakterienkultur „Ratin“ übergegangen.

Aus den Versuchen mit den toxischen Präparaten ging hervor, daß diese schnell wirken und die Ratten (die genügende Mengen per os aufnehmen) im Laufe von 1—3 Tagen töten. Die Menge des Ergänzungspräparates, das den Tod zur Folge hat, hängt von dem Körpergewichte ab, doch zeigten die Versuche, daß die Widerstandsfähigkeit der Ratten auch den toxischen Präparaten gegenüber etwas verschieden war, so daß eine ganz konstante, tödlich wirkende Menge sich mit dem Körpergewicht als Basis nicht feststellen ließ. Im allgemeinen jedoch starben mittelgroße Ratten (im Gewichte von 150 g), nachdem sie 5—6 g zu sich genommen hatten, große Ratten (im Gewichte von 300 g) nach dem Genuß von 8—10 g und kleine Ratten (im Gewichte von 60 g) nach einer Dosis von 2—3 g. Während das flüssige Präparat „Ratinin“ sich nur kurze Zeit hält, hielt sich „Ratin II“ bedeutend länger. Sogar ein 6 Monate langes Aufbewahren im Thermostaten bei 37° C bewirkte keine Schwächung der toxischen Substanzen. Zahlreiche Versuche mit dem Präparate in den Tropen mit 6 Monate altem (und noch älterem) „Ratin II“ haben die

Richtigkeit hiervon bestätigt. Das oben Gesagte gilt nur für *Mus decumanus*. Dagegen zeigten sich *Mus rattus* und *Mus alexandrinus* auch den Ergänzungspräparaten gegenüber weniger empfänglich. Durch Injektions- und Fütterungsversuche erwies es sich, daß diese Ratten in der Regel nicht durch eine Dosis, wie sie im Verhältnis zum Körpergewicht erwähnt wurde, beeinflußt wurden. Erst eine doppelt so große Dosis rief konstant den Tod bei diesen Ratten hervor. Da sie ferner ungern — im Gegensatz zu *Mus decumanus* — die Ergänzungspräparate in der Form zu sich nehmen, in welcher sich die toxischen Substanzen im Ratin II vorfinden, so fing das Laboratorium die Herstellung eines besonderen Präparates, das an denjenigen Stellen angewendet werden sollte, wo solche Rattenarten vorkommen (z. B. in den Tropen, sowie in Schiffen und mehreren Hafenstädten), unter dem Namen „Tropen-Ratin“ an.

Die Versuche belehrten uns ferner noch darüber, daß diejenigen Ratten, denen nur halb soviel vom Ergänzungspräparat eingegeben wurde, wie erforderlich war, um den Tod herbeizuführen, während der Dauer von $1\frac{1}{2}$ — 2 Monaten nach dem Genuß sogar gegen erheblich größere Dosen als die sicher tötenden unempfindlich waren, und erst nach Verlauf oben genannter Zeit übte die normale, tödliche Dosis wieder ihre Wirkung auf sie aus. Bei unsystematischen Vertilgungsversuchen wird es ohne weiteres einleuchten, daß dieser Umstand von großer Bedeutung für die Erzielung eines befriedigenden Resultates sein muß, indem zu geringes und allzu häufig erfolgendes Auslegen das Gegenteil von dem bewirken kann, was man bezweckt, indem die Ratten hierdurch leicht giftfest werden können.

Ueber die mit Haustieren angestellten Versuche sei folgendes gesagt:

5 Hühner wurden mit je 20 g Ratin II gefüttert, ohne daß es ihnen schadete.

20 Hühner wurden in zwei Zeitabschnitten (zu je 8 Tagen) täglich mit 100 g pro Tag gefüttert, ohne daß irgendwelcher Krankheitszustand bemerkbar wurde.

Tauben, Fasane, Enten bekamen reichliche Mengen Ratin II (von 20—50 g pro Tier), ohne daß sich ein krankhafter Zustand spüren ließ.

1 Pferd bekam per os 100 g Ratin II, ohne daß sich die geringste Spur von Unwohlsein zeigte. Die Beobachtungszeit dauerte 3 Wochen. Die Temperatur wurde täglich gemessen; es trat keine Temperaturerhöhung ein.

2 Ferkel (4 Wochen alt) wurden jedes mit 80 g gefüttert, ohne Schaden zu leiden.

3 Hunde wurden einzeln mit 80, 50 bzw. 80 g Ratin II gefüttert. Bei keinem bemerkte man Zeichen des Krankseins. Von den Hunden war der erstere ein Grand Danois, der zweite ein Pudel (junges Hündchen) und der dritte ein Black and tan-Terrier (1 Jahr alt); dieser letztere wurde nach Verlauf einiger Zeit wieder gefüttert, und zwar mit dem doppelten Quantum Ratin II, ohne andere Zeichen des Unwohlseins zu zeigen, als ein wenig am demselben Nachmittag eingetretener Diarrhöe. Letztere hörte am nächsten Tage auf, und der Hund zeigte danach keinerlei Krankheitssymptome mehr. Ein Grand Danois, dem 200 g Ratin II eingegeben wurden, war den Tag über etwas matt, hatte Diarrhöe, blieb liegen und stöhnte; tags darauf war er vollkommen gesund und munter, so daß man ihm nichts mehr anmerken konnte.

2 Katzen hatte man vorher in einem Behälter hungern lassen und ihnen dann Milch mit Ratinin vermischt vorgesetzt; auch wurde ihnen Ratin II zusammen mit geräucherten Heringen vorgelegt, doch waren sie nicht dazu zu bewegen, diese Sachen anzurühren. Zwei andere Katzen erhielten dasselbe in Verbindung mit gehacktem Fleisch und fraßen hiervon eine Menge — etwa 10 g Ratin II —, ohne irgendwie hierdurch geniert zu werden.

2 junge Rinder (6 Monate alt) wurden einzeln mit 80 g Ratin II gefüttert, ohne daß sie Krankheitszeichen äußerten. Die Beobachtungszeit dauerte 14 Tage.

Endlich wurden 3 Kaninchen — jedes einzeln — mit 15 g Ratin II gefüttert, ohne daß sie Spuren von Uebelbefinden aufwiesen.

Da ein Teil der Dosen, die bei den angestellten Versuchen benutzt wurden, erheblich größer sind, als wie solche in der Praxis zur Verwendung gelangen, können die Ergänzungspräparate, praktisch beurteilt, als unschädlich für Haustiere betrachtet werden.

Unsere praktischen Versuche (vgl. später) haben gleichfalls dieses konstatiert.

Versuche mit Ratinin und Ratin II an Haustieren sind außerdem durch Raebiger (10) (Halle a./S.), A. Bergmann (11) (Malmö) und Prof. Malvoz (12) (Lüttich) angestellt worden. Durch diese Versuche ist ebenfalls die Unschädlichkeit der Ergänzungspräparate für Haustiere erwiesen worden.

Als das dänische Gesetz zur systematischen Vertilgung der Ratten im Jahre 1907 erlassen war, wurde das Bakteriologische Laboratorium „Ratin“ unter die Kontrolle des dänischen Staates gestellt, und es wurden dem genannten Laboratorium zur Vornahme von Versuchen in der Praxis in größerer Ausdehnung Geldmittel seitens des Staates angewiesen. Der Bericht über das Ergebnis der ersten Reihe dieser Versuche, die 1907—1908 stattfanden (vom Monat November bis zum Monat Juli) wurde im Herbst 1908 veröffentlicht (13). Nach dem von der Regierung aufgestellten Plane sollten Versuche 3 Jahre hintereinander angestellt werden, um teilweise ein größeres Material zur Beurteilung der Wirkung der Präparate des Laboratoriums in der Praxis und als Probe der Zuverlässigkeit des Systems, welches das Laboratorium auf der Basis von Versuchen zur rationellen Vertilgung von Ratten ausgearbeitet hat, herbeizuschaffen.

Trotz des Umstandes, daß bislang nur die Resultate der Versuche des ersten Jahres vorliegen, wird es doch meiner Meinung nach von Bedeutung sein, wenn diese vorgelegt werden, teils um Unbeteiligten einen Einblick in die Arbeitsweise des Laboratoriums zu geben, teils aber auch, um falsche Auffassungen über die durch das Laboratorium versandten Präparate zu zerstreuen. In dem Nachstehenden wird daher auf den Vertilgungsplan eingegangen werden, den das Laboratorium ausgearbeitet und zugrunde gelegt hat, damit die Notwendigkeit einer systematischen Arbeit klar vor Augen geführt wird, und man das rechte Verständnis für die Zweckmäßigkeit der durch das Laboratorium hergestellten Präparate bekommen kann, die in dem System, in dem sie angewendet werden, in einer ganz bestimmten Reihenfolge zur Benutzung gelangen, auf Erfahrungen basierend, die durch angestellte Laboratoriumsversuche gewonnen und in praktischer Tätigkeit erprobt sind.

Die im Jahre 1907—1908 durch das Laboratorium auf Kosten des Staates und unter staatlicher Kontrolle angestellten Versuche zur Ver-

tilgung von Ratten an von diesen sehr heimgesuchten Stellen, wobei die Präparate des Laboratoriums benutzt wurden, sollen im folgenden einer näheren Besprechung unterzogen werden.

Die Versuchsstellen wurden, insofern es sich um Staatsinstitutionen handelte, durch das Ministerium angegeben, während die privaten Versuchsstellen nach Rücksprache mit dem seitens des Ministeriums hierzu beauftragten Vertreter bestimmt wurden.

Es wurden im übrigen die gleichen Bedingungen an die Versuchsstellen gestellt, wie sie früher schon geschildert worden sind.

Es wurden 2 Versuchsreihen vorgenommen.

In der ersten Versuchsreihe wurden Ratin und darauf Ergänzungspräparate angewandt, in der zweiten Versuchsreihe wurden nur Ergänzungspräparate, dagegen nicht Ratin angewandt.

Versuchsreihe 1.

(Ratinkultur und danach Ergänzungspräparate.)

Der Plan bei diesen Versuchen war folgender:

1) Das erste Mal wurde die Ratinkultur entweder als Bouillon- oder als Kartoffelkultur ausgelegt, um den Ratten an den Versuchsstellen die Ratinkrankheit beizubringen und die Infektion hervorzurufen. An den Stellen, wo Bouillonkultur ausgelegt wurde, durchtränkte man unmittelbar vor dem Auslegen halbtrockene Franzbrotwürfel mit der Kultur. Die Franzbrotstücke wurden dann ringsumher ausgelegt an solchen Stellen, wo sich Ratten aufhielten, besonders da, wo sich vermuten ließ, daß die Ratten ihre Brutstellen hatten.

Das Auslegen der Kultur geschah des Abends, damit die Ratten so wenig wie möglich beim Fressen der Kultur gestört wurden, und am nächsten Morgen wurde dann notiert, wie viele Päckchen im Laufe der Nacht verschwunden waren. Die nicht angerührten Portionen wurden eingesammelt und tagsüber in einem kühlen Keller aufbewahrt und Abends wieder auf die Brutplätze der Ratten gelegt. An solchen Stellen, wo das Auslegen von Kartoffelkultur geschah, wurden teelöffelgroße Portionen, lose in Papier gewickelt, im übrigen in der gleichen Weise ausgelegt. In einigen Fällen wurde Ratinkultur nur 1mal, in anderen Fällen 2mal ausgelegt.

An denjenigen Stellen, wo 2maliges Auslegen stattfand, geschah das 2malige Auslegen 10—14 Tage nach dem ersten Auslegen.

2) 3 Wochen nach dem Auslegen des Ratins wurden Untersuchungen angestellt, die den Zweck hatten, darüber Auskunft zu erbringen, inwieweit die Anzahl der Ratten an der Versuchsstelle abgenommen hatte. Darauf wurden die Ergänzungspräparate ausgelegt, um die überlebenden, für die Ratinkultur unempfindlichen Ratten zu töten. An einigen Stellen wurde Ratin II, an anderen Stellen „Ratinin“ ausgelegt. In solchen Fällen, wo Ratin II ausgelegt wurde, wurde dieses vorher mit Leberpastete oder Schweineschmalz gemischt, um es auf diese Weise den Ratten als einen noch besseren Leckerbissen vorzulegen.

In der Versuchsreihe 1 wurden 10 ausführlichere Versuche angestellt, wie aus nachstehender Tabelle I hervorgeht, in welcher gleichfalls angegeben ist, in wie hohem Grade die Stelle von Ratten heimgesucht und wie lange die betreffende Stelle unter Beobachtung des Laboratoriums war, bevor man von der Versuchsstelle Auskunft über das Versuchsergebnis einholte.

Tabelle I.
Versuchsreihe 1. (Ratinkultur und später Ergänzungspräparat.)

Name der Versuchsstelle	Grad der Heim- suchung durch Ratten vor Beginn des Versuches	Ausgelegtes Ratin	Resultat des Auslegens von Ratin	Ausgelegte Ergänzungs- präparate	Resultat des Auslegens der Ergänzungs- präparate	Hauptergebnis des Versuches	Dauer der Beobachtungs- zeit
Versuch 1. Nördlicher Teil der „Revshaleöen“ (einer Insel im Kopen- hagener Hafen). 5 Koh- len- u. Lagerplätze nebst einem kleinen Hotel. Im ganzen ca. 5 ha Land	Sehr heimgesucht	Bouillonkultur Ratin am 6. 2. 08 Feste Formkul- tur Ratin am 20. 2. 08	Bedeutende Ab- nahme der Rat- tenanzahl, mit Ausnahme einer Stelle, wo keine Veränderung gespürt wurde	Ratin II 6. 3. 08 am	Ratten werden nicht mehr ge- sehen, nur an einer Stelle ganz einzelne	Nahezu vollstän- dige Vertilgung	ca. 3 1/2 Monate
Versuch 2. Südlicher Teil der „Revshaleöen“ (2 große Arbeitsplätze etc., Petroleumlagerplatz nebst Gebäuden u. Stal- lungen u. 1 Steindamm)	Ein Teil d. Insel sehr von Ratten heimgesucht, ein anderer Teil dagegen weniger	Bouillonkultur Ratin am 8. 2. 08 Feste Formkul- tur Ratin am 20. 2. 08	Nach d. Auslegen beider Sorten Abnahme der Rattenanzahl Einzelne Ratten lassen sich noch blicken	Ratin II 4. 3. 08 am	Die Ratten sind vertilgt	Vollständige Vertilgung	ca. 3 1/2 Monate
Versuch 3. Große Müllablagerungsstätte auf der Insel Amager (etwa 2 ha Land)	In außerordent- lich hohem Grade heimgesucht	Bouillonkultur Ratin am 3. 3. 08	Die Anzahl der Ratten hat be- deutend abge- nommen	Ratin II 18. 3. 08 am	Die Ratten sind verschwunden	Vollständige Vertilgung	ca. 1 1/2 Monate
Versuch 4. Insel Chri- stiansholm (20 000 qm groß)	Nicht in beson- derem Grade heimgesucht	Bouillonkultur Ratin am 10. 2. 08 Feste Formkul- tur Ratin am 26. 2. 08	Die Ratten haben augenscheinlich neue Zufluchts- stätten aufge- sucht, Abnahme nicht bemerkbar	Ratin II 26. 3. 08 am	Die Ratten schei- nen vollständig verschwunden zu sein	Vollständige Vertilgung	ca. 2 Monate
Versuch 5. Kriegswert (ca. 45 ha Land). Die Inseln: Nyholm, Doköen, Frederiksholm u. Arse- nalinse	Einige Stellen sehr, andere hin- gegen weniger heimgesucht	Bouillonkultur Ratin am 7. 11. 08. An einzelnen Stellen fand später ein neues Auslegen statt	An einzelnen Stellen bedeu- tende Abnahme der Rattenan- zahl, an anderen Stellen keine Abnahme	Ratin II 4. 12. 08 (später wurde das Aus- legen von klei- neren, ergänzen- den Portionen mehrfach wie- derholt)	Nur selten ge- wahrt man eine einzelne Ratte	Nahezu vollstän- dige Vertilgung	ca. 8 Monate

Name der Versuchsstelle	Grad der Heim- suchung durch Ratten vor Beginn des Versuches	Ausgelegtes Ratin	Resultat des Auslegens von Ratin	Ausgelegte Ergänzungs- präparate	Resultat des Auslegens der Ergänzungs- präparate	Hauptergebnis des Versuches	Dauer der Beobachtungs- zeit
Versuch 6. Gebäude- komplex in Kopenhagen; Marinelazarett, Marine- schule sowie ein Zimmer- platz	Nicht in beson- derem Grade heimgesucht	Bouillonkultur Ratin am 8. 11. 07	Entschieden ge- wirkt; doch lassen sich noch Ratten blicken	Ratin II am 22. 11. 08 (später wurde das Aus- legen von ein- zelnen ergänzen- den Portionen wiederholt)	Ratten werden nicht mehr ge- sehen	Vollständige Vertilgung	ca. 8 Monate
Versuch 7. Insel Fänö (im kleinen Belt, Middel- fart gegenüber)	Wenige Ratten	Bouillonkultur Ratin am 6. u. 7. 12. 07	Einzelne Ratten lassen sich noch blicken	Ratin II am 19. 12. 08	Ratten werden nicht mehr ge- sehen	Vollständige Vertilgung	ca. 1 1/2 Monate
Versuch 8. Seefort „Quintus“ bei Kopen- hagen	Sehr heimge- sucht	Bouillonkultur Ratin am 22. 11. 07 Feste Formkul- tur Ratin am 4. 1. 08	Keine Abnahme der Rattenzahl nach dem Aus- legen beider Portionen ge- spürt	Ratin II am 25. 1. 08	Man sieht keine Ratten mehr	Vollständige Vertilgung	ca. 3 Monate
Versuch 9. Seefort „Lynetten“ bei Kopen- hagen	Sehr heimge- sucht	Bouillonkultur Ratin am 9. 11. 07 Feste Formkul- tur Ratin am 27. 11. 07	Entschieden ge- wirkt; doch lassen sich noch Ratten blicken	Ratin II am 30. 12. 07 (später erfolgte Aus- legen von ein- zelnen kleineren Portionen)	Bedeutende Wir- kung. Man sieht jetzt nur selten eine einzelne Ratte	Nahezu vollstän- dige Vertilgung	ca. 7 Monate
Versuch 10. Seefort „Trekroner“ bei Kopen- hagen	Viele Ratten	Bouillonkultur Ratin am 9. 11. 07 Feste Formkul- tur Ratin am 27. 11. 07	Die Ratten sind augenscheinlich an Zahl zurück- gegangen	Ratin II am 30. 12. 07 (später wurde das Aus- legen von ein- zelnen ergänzen- den Portionen wiederholt)	Nur an einzelnen Stellen wurden noch Ratten wahrgenommen	Sehr bedeutende Abnahme der Anzahl der Ratten	ca. 8 Monate

Aus dem Resultat geht hervor, daß 6 Stellen völlig von Ratten befreit wurden, 3 Stellen nahezu vollständig, indem erst lange Zeit nach dem Abschlusse des Versuches eine einzelne Ratte gesehen wurde, wogegen an einer Stelle zwar eine erhebliche Abnahme in der Zahl der Ratten stattfand, indessen kein vollauf befriedigendes Resultat erzielt wurde.

Versuchsreihe 2.

Während der Zweck der mit Versuchsreihe 1 angestellten Versuche war, 1) zunächst die Rattenmenge durch Auslegen von Ratinkultur zu vermindern, sowie Nutzen aus der Infektion zu ziehen, und nachdem die Reduzierung der Anzahl der Ratten erfolgt war, 2) den überlebenden Rest der Ratten durch Ergänzungspräparate zu töten, war mit diesen Versuchen, die hier aufgeführt sind, eine Untersuchung bezweckt, inwieweit man ebenso gute Resultate durch Auslegen von Ergänzungspräparaten allein (Ratin II oder Ratinin) erzielen konnte, ohne vorherige Anwendung von Ratinkultur.

Behufs Klarlegung der angestellten Versuche soll hier die Wirkungsart der Präparate etwas näher beleuchtet werden.

Ratin wirkt langsam, d. h. es verstreicht eine kürzere oder längere Zeit zwischen der Aufnahme der Bakterien bis zum Erscheinen der Krankheit (Inkubationszeit) und Herbeiführung des Todes der Ratten. (Die Zeitdauer ist verschieden, und öfters sind die Ratten 3—8 Tage, nachdem sie von der Kultur gefressen haben, scheinbar vollkommen gesund.) Die Ergänzungspräparate wirken schnell, und die Ratten sterben schon nach 1—3 Tagen. Dieses ist in der Praxis von Bedeutung, da die Ratten bei Aufnahme von Ratin nicht daraus klug werden, wann sie den schädlichen Stoff eingenommen haben, und die eventuell überlebenden werden daher ohne Argwohn das Ergänzungspräparat verzehren. Wenn man daher keine völlige Vertilgung oder befriedigende Reduzierung der Rattenmenge erzielt, wird man eine fernere Abnahme, eventuell eine völlige Vertilgung durch Auslegen von Ergänzungspräparaten 3—4 Wochen nach erfolgtem Auslegen der Bakterienkultur „Ratin“ herbeiführen können.

Bei den unter Versuchsreihe 1 angestellten Versuchen wurde, wie angeführt, dieses Verfahren mit befriedigendem Resultat angewandt.

Beim Auslegen von Ergänzungspräparaten allein (Tabelle II) hat es sich gezeigt, daß das Resultat davon abhängig ist, inwieweit beim ersten Auslegen genügende Mengen angewandt werden. Hat man nämlich beim ersten Auslegen kein genügendes Quantum benutzt, so werden die überlebenden Ratten argwöhnisch und verschmähen alles Ausgelegte, sogar gewöhnliches Franzbrot mit Wasser, und da es sich gezeigt hat, daß die übriggebliebenen Ratten oft mehrere Monate lang alles verschmähen, was ausgelegt ist, und äußerst vorsichtig mit dem Einnehmen der Nahrung sind (und oft giftfest sind durch Aufnahme zu kleiner Mengen Ratin II oder Ratinin), so erzielt man nur für kurze Zeit eine Abnahme der Rattenanzahl an der betreffenden Stelle.

Meiner Ansicht nach läßt sich diese Erscheinung dadurch erklären, daß es schwierig ist, beim ersten Auslegen sämtliche Ratten zu töten, und das zweite Auslegen wird nach dem hier Gesagten so gut wie resultatlos verlaufen.

Tabelle II.
Versuchsreihe 2. (Ergänzungspräparate allein.)

Name der Versuchsstelle	Grad der Heimsuchung durch Ratten vor Beginn des Versuches	Ausgelegte Ergänzungspräparate	Resultat des Auslegens der Ergänzungspräparate	Dauer der Beobachtungszeit
Versuch 1. Landbesitz „Fredesriksgaard“ bei Kopenhagen. (ca. 25 ha Land.)	In außerordentlich hohem Grade von Ratten heimgesucht	1) Ratin II am 11. Nov. 07 2) dgl. „ 25. „ 07 3) dgl. „ 6. Jan. 08 4) dgl. „ 2. März 08	Abnahme d. Rattenmenge eine Zeitlang; später ungefähr ebenso viele Ratten wie früher	ca. 4 Monate
Versuch 2. Landbesitz „Söholmgaard“ bei Kopenhagen. (ca. 50 ha Land.)	Stark heimgesucht	1) Ratin II am 11. Nov. 07 2) dgl. „ 25. „ 07 3) dgl. „ 6. Jan. 08 4) dgl. „ 15. Febr. 08	Sehr bedeutende Abnahme der Anzahl der Ratten	ca. 3½ Monate
Versuch 3. „Faste Batteri“ (Fort an der See auf der Insel Amager bei Kopenhagen gelegen.) Von geringer Ausdehnung.	Stark heimgesucht	1) Ratin II am 8. Nov. 07 2) dgl. „ 23. „ 07 3) dgl. „ 6. Jan. 08	Nahezu völlige Vertilgung	ca. 2½ Monate
Versuch 4. Landbesitz „Maglegaaard“ bei Herlev auf Seeland. (ca. 35 ha Land.)	Sehr stark heimgesucht	1) Ratin II am 5. Febr. 08 2) Ratinin „ 6. April 08	Nahezu völlige Vertilgung	ca. 4 Monate
Versuch 5. Landbesitz „Grønnemosegaard“ bei Herlev auf Seeland. (ca. 33 ha Land.)	Sehr heimgesucht	1) Ratin II am 6. Febr. 08 2) dgl. „ 6. April 08 3) Ratinin „ 6. Juni 08	Nahezu völlige Vertilgung	ca. 2 Monate
Versuch 6. Rittergut „Hofmannsgave“.	Uebersaus stark heimgesucht	1) Ratin II am 12. März 08 2) Ratinin „ 5. Juni 08	Nahezu völlige Vertilgung	ca. 2 Monate

Vergleichen wir die Ergebnisse der Versuchsreihe 1 mit den Resultaten der Versuchsreihe 2, so zeigt sich ein bedeutender Unterschied, indem eine völlige Vernichtung an keiner einzigen Stelle der Versuchsreihe 2 erzielt wurde (d. h. an den Stellen, wo die Ergänzungspräparate ohne vorheriges Auslegen von Ratinakultur angewandt waren), während bei der Versuchsreihe 1 in 6 von 10 Fällen eine vollständige Vertilgung der Ratten erzielt wurde.

Hieraus ergibt sich die Bedeutung einer vorherigen Abnahme der Rattenmenge vermittelt der Bakterienkultur.

Auf Grund dieser und anderer Versuche hat das Laboratorium einen bestimmten Vertilgungsplan entworfen (14), der, in aller Kürze angedeutet, auf folgendes hinausgeht:

1) Vornahme einer genauen Untersuchung der Stelle, die von Ratten befreit werden soll. Hierbei ist die Aufmerksamkeit insbesondere darauf zu richten:

- a) ob die Stelle isoliert gelegen, oder ob in der Nähe sich von Ratten heimgesuchte Orte vorfinden (sofern letzteres der Fall ist, sind solche Stellen mit in den Rahmen des Vertilgungskreises hineinzuziehen);
- b) ob unmittelbar vorher Gift etc. ausgelegt worden ist, wodurch die Ratten eventuell argwöhnisch geworden sind (in solchen Fällen, wo dieses der Fall gewesen ist, empfiehlt es sich, das Vertilgungsverfahren einige Monate zu verschieben);
- c) beim Auslegen kleiner Päckchen feuchten Franzbrottes den Versuch zu machen, die Anzahl der Ratten an Ort und Stelle ungefähr zu ermitteln, sowie die Brutplätze der Ratten zu finden.

2) Auslegen der Bakterienkultur (Ratin I) (und zwar entweder als Bouillon- oder als Kartoffelkultur) und

3) Auslegen von Ergänzungspräparaten (entweder „Ratin“ oder „Ratin II“), sofern 3–4 Wochen nach dem Auslegen der unter Punkt 2 aufgeführten Bakterienkultur keine völlige Vertilgung der Ratten oder befriedigende Abnahme der Zahl der Ratten erzielt worden ist.

4) Unmittelbar nach der letzten Auslegung (4 Tage später) haben angestellte Versuche ergeben, daß es von großer Bedeutung ist, daß alle sichtbaren Rattenlöcher zugedeckt werden, so daß die Jungen einerseits nicht an die Oberfläche kommen können, andererseits ein erneutes Eindringen von Ratten anderswoher erschwert wird.

September 1909.

Literatur.

- 1) Bahr, L., Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905.)
- 2) Raebiger, H. u. Schwinning, Mitteil. d. Dtsch. Landwirtschaftl. Gesellsch. Mai 1906. — Raebiger, H., Maßnahmen zur Bekämpfung der Ratten-, Mäuse- und Schneckenplage. (Jahrb. d. Dtsch. Landwirtschaftl. Gesellsch. Bd. 22. 1907. April.)
- 3) Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 55. 1906.
- 4) Xylander, Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1908. März.)
- 5) Bergman, A., Om råttelödningsmedlet Ratin. (Tidsskrift för Landtmän. 1904.)
- 6) Wladimiroff, A. A. u. Kamensky, A., Versuche an Haustieren mit der ratten-tötenden Bakterie Neumanns (Ratin). (Berl. tierärztl. Wochenschr. No. 2. 1907.)

- 7) van t'Hoff u. Wedda, P., Laboratoriumsbericht.
- 8) Bronstein, Dtsche med. Wochenschr. 1901.
- 9) Bahr, L., Meddelelse fra Bakteriologisk Laboratorium Ratin. (Ugeskrift for Landmænd. 1906. No. 25—26.)
- 10) Raebiger, H., Versuche mit Ratin. (Mitteil. d. Dtsch. Landwirtschaftl. Gesellsch. 1907. 9. Nov.)
- 11) Bergman, A., Om tvenne utrotningsmedel för råtter, bakteriekultuserne Ratts och Ratin. (Almänna Svenska Läkartidningen. 1908. No. 24.)
- 12) Malvoz, S. E. (Liège), Experiences faites à l'Institut de Bacteriologie de Liège en novembre 1908.
- 13) 1^{te} Beretning fra Bakteriologisk Laboratorium Ratin angaaende de af Laboratoriet i Finansaaret 1907—08 med Statsmidler foretagne praktiske Forsøg.
- 14) Bahr, L., Om rationel Udryddelse af Rotter. 1908.

Nachdruck verboten.

Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtner-Gruppe.

[Aus der bakteriol. Untersuchungsanstalt des XII. (1. K. S.) A.-K. Dresden
(Vorstand: Oberstabsarzt Dr. Thalmann).]

Von Dr. Xylander, Stabsarzt im 1. (Leib)-Gren.-Regt. No. 100.

Nachdem Trautmann (1) in seiner Publikation „Die Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger“ schon auf die Artverwandschaft des Ratinbacillus mit den Paratyphusbacillen aufmerksam gemacht hatte, wurde von uns in einer Arbeit „Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel“ (2) erneut festgestellt, daß sich dieser Bacillus morphologisch, kulturell und biologisch in nichts von den Bakterien der Gruppe der Fleischvergifter (Typus Gärtner) unterscheiden lasse. Auch erhärteten späterhin Mühlens, Dahm und Fürst (3) durch ihre Untersuchungen diese vorgenannten Tatsachen. Bei unseren Untersuchungen stellten wir weiterhin fest, daß nur ein gewisser Prozentsatz von wilden Ratten durch den Ratinbacillus vernichtet werde, daß ein nicht unerheblicher Teil sich jedoch gegen Ratin immun erweise, und zwar waren es Ratten, bei welchen Schutzstoffe im Blute nachgewiesen werden konnten, ohne daß es gelang, einen Grund für die Entstehung derselben zu finden. Trautmann und wir nahmen an, daß die große Resistenz bzw. Immunität vieler grauer Ratten gegen die Bakterien der Gärtner-Gruppe bzw. Ratinbacillus auf eine in früherer Zeit bereits überstandene leichte Infektion mit gleichem oder verwandtem Erreger bzw. auf hierdurch gebildete Schutzstoffe zurückzuführen sei. Tatsächlich gelang es später Trautmann, aus den Organen anscheinend vollkommen gesunder Ratten paratyphusähnliche (Typus Gärtner) Bakterien zu züchten.

In No. 26 und 40 der Landwirtschaftlichen Wochenschrift für die Provinz Sachsen, Jahrg. 1908, wurde nun unsere Arbeit (Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel) einer kritischen Besprechung unterzogen. Unter anderem wurde uns der Vorwurf gemacht, die Rattenvertilgung mit Ratin hätte eine unvollkommene Behandlung insofern erfahren, als Ratin II nicht mit in das Bereich der Untersuchungen einbezogen worden wäre. Da dieses Präparat, wie nachgewiesen, bei Nichtempfänglichkeit der Ratten für Ratin dieselben töte, so leiste das Ratinverfahren viel mehr,

als wir von ihm gelten lassen wollten, es seien daher Versuche mit Ratin ohne Berücksichtigung des Ergänzungspräparats Ratin II bedeutungslos und könnten nicht als maßgebend hingestellt werden. Da es außerdem im bakteriologischen Institute der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen sehr wohl gelungen sei, morphologisch, kulturell und biologisch wesentliche Unterschiede zwischen dem Ratinbacillus und den Bakterien der Gruppe der Fleischvergifter (Typus Gärtner) nachzuweisen, so sei das ganze Fundament unserer Ausführungen erschüttert. Es wurde zum Schluß noch eine Veröffentlichung dieser letztgenannten bakteriologischen Untersuchungen in Aussicht gestellt. Diese Arbeit ist nun indessen in der Zeitschrift für Infektionskrankheiten usw. für Haustiere, Bd. 5 S. 295 (4), erschienen. Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen Bahr, Rübiger und Grosso zu folgenden Schlüssen: Aus den vergleichenden Prüfungen geht hervor, daß zwischen dem Ratinbacillus, dem Bacillus paratyphosus B und dem Bacillus enteritidis Gärtner (aus Halle) sowohl in kultureller wie morphologischer Beziehung als auch bezüglich des biochemischen Verhaltens der Bakterien mehrere Unterschiede bestehen.

Die differentialdiagnostischen Merkmale treten besonders deutlich hervor:

1) Bei dem Wachstum in bernsteinsaurer Ammoniak-Cibils Aschelösung, durch welches sich der Ratinbacillus und der Bacillus paratyphosus B. deutlich von dem Gärtner-Bacillus unterscheiden;

2) hinsichtlich des Gärungsverhaltens in Bouillon mit Zusatz von Arabinose, welche der Gärtner-Bacillus nicht zu vergären vermag, und

3) durch das Verhalten gegenüber organischen Säuren, von denen Traubensäure durch den Ratinbacillus gespalten wird, während der Paratyphusbacillus Traubensäure zu spalten nicht imstande ist;

4) mit Hilfe des Bacillus Gärtner hergestelltes Serum schützt gegen die nachfolgende Infektion mit der Gärtner-Kultur, aber nicht gegen Ratin, und schließlich

5) bei dem Wachstum auf Cibils Laktoseagar bezw. Fleischagar mit Koffeinzusatz, bei welchem der Ratinbacillus im Gegensatz zu dem Paratyphus- und Gärtner-Bacillus keine Fadenbildung zeigt.

In einem Nachtrag sagen die drei Autoren noch folgendes: „Zu unserer Arbeit haben wir nachzutragen, daß vorläufige Untersuchungen von Gärtner-Stämmen, die wir teils aus Prag (Král), teils von Herrn Professor Klimmer in Dresden erhielten, ergeben haben, daß diese Kulturen sowohl imstande sind, bernsteinsaures Ammoniak zu benutzen als auch Arabinose zu vergären.“ Wir schließen aus diesen Ergebnissen, daß unter dem Namen „Bacillus enteritidis Gärtner“-Kulturen von verschiedenen biologischen Eigenschaften geführt werden. Mithin entsteht die Frage, welches der Original-Gärtner-Bacillus ist und wie sich dieser im Vergleich zu dem Bacillus paratyphosus B und dem Ratinbacillus verhält.

Im folgenden sind nun die Versuchsergebnisse niedergelegt (Tabelle I),

Tabelle I. Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

Bezeichnung des Nährbodens	Ratinbacillus	Van Ermen-gem	Gärtner-Institut	Gärtner-Drigalski	Gärtner-Ges.-Amt.	Moor-seele	Gent Brügge	Airtryk	Rum-fleth	Hau-stedt	Dunbar	Danysz	Paraty-phus B
Fleischwas-ser-Agar	Zarte, feine weißlich bis gelbliche runde, durchscheinende, oft durchsichtige, nicht scharf be-grenzte Kolonien. Größe variabel bis 4 mm.	Kolonien wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin	wie Ratin
Gelatine	wird nicht verflüssigt, sie läßt ein weißliches, feuchtes Wachstum der Kolonien erkennen.												
Bouillon	wird gleichmäßig getrübt, es bildet sich nach Verlauf einiger Tage ein Häutchen an der Oberfläche, welches nach kurzer Zeit zu Boden sinkt.												
Milch	wird nicht zur Gerinnung gebracht, es wird in ihr nach mehrtägigem Wachstum Alkali gebildet, nach längerer Zeit, meist in der dritten Woche, wird das Substrat gelblich und fast durchsichtig.												
Lackmus-milchzucker-agar	Nährboden wird nicht verändert, Kolonien dem Typhus ähnlich, jedoch etwas weniger durchsichtig und saftiger. Rand der Kolonien unregelmäßig.												
Lackmus-molke	wird innerhalb 24 Stunden stark gerötet. Vom dritten Wachstumstage an nimmt die Molke unter zunehmender Trübung einen bläulichen Ton an, bis sie unter Klärung nach 8 bis 14 Tagen intensiv veilchenblau geworden ist. Am dritten bis fünften Tag bildet sich auf der Oberfläche eine Kahmhaut, die bald zu Boden sinkt. Die einzelnen Stämme zeigen sowohl untereinander, als auch ein und derselbe Stamm bei mehrfacher Untersuchung quantitative, aber nicht qualitative Unterschiede.												
Malachit-grünagar	runde, durchscheinende Kolonien mit Kern in der Mitte. Aufhellung des Nährbodens.												
Malachit-grünlösung	wird nach 12 bis 18 Stunden getrübt und entfärbt.												
Bernstein-saureAmmoniak-Cibils Aschelösung	nach etwa 24 Stunden gleichmäßig getrübt, erst nach mehreren Tagen wird die Bouillon klar.												
Fleischagar mit 0,5 bis 0,8 Proz. Koffein.	Spärliches Wachstum.												
Neutralrot-agar	Gasbildung und Fluoreszenz.												

welche eine erneute vergleichende Untersuchung zwischen dem Ratinbacillus und den Bakterien der Gärtner-Gruppe¹⁾ ergeben haben. Die Versuchsergebnisse sind in der Reihenfolge der Schlußsätze, wie sie sich in der Arbeit von Bahr, Rübiger und Grosso finden, aufgeführt.

Die Untersuchung der kulturellen Eigenschaften des Ratinbacillus und des Original-Gärtnerstammes sowie der bei den verschiedensten Fleischvergiftungen gezüchteten Gärtner-ähnlichen Bakterien ergibt in allen Teilen vollkommene Uebereinstimmung, insbesondere Wachstum auf Nährböden, welche bernsteinsaures Ammoniak enthalten.

Tabelle II.
Einwirkung auf verschiedene Zuckerarten.

Zuckerart	Ratin	Gärtner-Institut	Gärtner van Ermengem	v. Drigalski	Ges.-Amt.	Moorseele	Gent	Brügge	Airtryk	Rumfleth	Haustedt	Dunbar	Danyez	Paratyphus B
Arabinose	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +
Xylose	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +
Dextrose	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +	a + b 0 c +
Lävulose	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +
Mannose	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +
Rohrzucker	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c +	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0	a + b + c 0
Milchzucker	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c +	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0
Maltose	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +
Dextrin	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0	a + b 0 c 0
Dulcit	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +	a + b + c +

+ = vorhanden, a = Wachstum, b = Gasbildung, c = Säurebildung, 0 = nicht vorhanden.

1) Die geprüften Stämme stammen teils von Herrn Geheimen Regierungsrat Prof. Dr. Uhlenhuth, teils aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.

Hinsichtlich des Vergärungsvermögens und der Säurebildung des Ratinbacillus sowie der Original-Gärtner und der Gärtner-ähnlichen Bacillen ergibt sich bei den vorbezeichneten untersuchten Zuckerarten auch nicht der geringste Unterschied, insbesondere wird Arabinose von allen zur Prüfung herangezogenen Bakterien der Gärtner-Gruppe vergoren (Tabelle II). Zu diesem Verhalten des Ratinbacillus und der Gärtner-Bacillen auf zuckerhaltigen Nährböden ist noch zu bemerken, daß außer den Versuchen von Mühlens, Dahm und Fürst die eingehenden Untersuchungen von Seiffert (5) in dem Königlichen Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. erneut die Tatsache feststellten, daß sich der Ratinbacillus genau wie ein echter Gärtner verhält.

Zu Punkt 3 erübrigt es sich, Stellung zu nehmen, da der Paratyphus-B-Bacillus vom Gärtner-Bacillus wohl zu unterscheiden ist, also auch vom Ratinbacillus.

Versuche zur Feststellung der Schutzkraft von Gärtner-Serum (Original Gärtner) gegenüber der Infektion mit Bac. enteritidis Gärtner und dem Ratinbacillus.

Vorbemerkung. Um eine gleiche Dosierung von Bakterienkulturen zu ermöglichen, wurden nicht Bouillonkulturen verwendet, sondern gleiche abgewogene Mengen (Normalöse), welche dann in Bouillon aufgeschwemmt wurden. Gärtner-Antiserum Agglutinationstiter 1:3000.

I. Versuch. 2 weiße Mäuse wurden subkutan mit 24 Stunden alter Agarkultur von Original Gärtner geimpft.

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 2 Tagen	} Reinkultur Gärtner im Blut.
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 5 "	

II. Versuch. 2 " weiße Mäuse wurden subkutan mit 24 Stunden alter Agarkultur von Ratin (aus Ratin I gezüchtet) geimpft.

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 24 Stunden	} Reinkultur Ratin im Blut.
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 48 "	

III. Versuch. 2 weiße Mäuse erhielten subkutan 0,25 ccm Gärtner-Kaninchen-Antiserum (Titer 1:3000), 24 Stunden später:

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 2 Tagen	} Reinkultur Gärtner im Blut
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 6 "	

IV. Versuch. 2 weiße Mäuse erhielten subkutan 0,25 ccm Gärtner-Kaninchen-Antiserum, 24 Stunden später:

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 24 Stunden	} Reinkultur Ratin im Blut.
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 3 Tagen	

Kontrollen:

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 3 Tagen	} Gärtner im Blut.
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 4 "	
III	$\frac{1}{20}$	"	† " 24 Stunden	} Ratin im Blut.
IV	$\frac{1}{100}$	"	† " 2 Tagen	

V. 0,25 ccm Gärtner-Antiserum subkutan lebt.

V. Versuch. 4 weiße Mäuse erhielten 0,25 ccm Ratin-Kaninchen-Antiserum (Titer 1:60 000) subkutan, 24 Stunden später:

Maus I	$\frac{1}{20}$	Oese Agarkultur	† nach 2 Tagen	} Gärtner in Rein- kultur im Blut.
II	$\frac{1}{100}$	"	† " 4 "	
III	$\frac{1}{20}$	"	† " 24 Stunden	} Reinkultur Ratin im Blut.
IV	$\frac{1}{100}$	"	† " 2 Tagen	

V. 0,25 ccm Ratin-Antiserum subkutan lebt.

Aus den Versuchen geht klar und deutlich hervor, daß es mit verhältnismäßig hohen Dosen von Antiserum (Gärtner und Ratin) nicht gelingt, bei subkutaner Einverleibung Mäuse gegen die Infektion mit Gärtner bzw. Ratinbacillen zu schützen. Diese Resultate bestätigen die seinerzeit von Fischer (6) festgestellte Tatsache, daß in dem Serum von Tieren, die mit großen Mengen von Gärtner-Kulturen vorbehandelt

wurden, keine bakteriziden und lysogenen Stoffe gefunden wurden, obwohl diese Sera einen ungemein starken Agglutinationswert 1:100000 besaßen. Es gelang ihm auch nicht, in diesen Seris die geringste Spur einer antitoxischen Kraft zu finden. v. Ermengem konnte späterhin diese Tatsache bestätigen. Bahr, Rübiger und Grosso bestätigen auch selbst unbewußt diese Tatsache, sie sagen: Gegenversuche mit Ratinserum gegen den *Bac. enteritidis* Gärtner (Halle) und Ratin konnten nicht gemacht werden, weil unser Ratinserum keine Schutzkraft gegen den Ratinbacillus besaß (auch nicht gegen den *Bac. enteritidis* Gärtner Halle a. S.). Daß bei den Versuchen mit dem Gärtner-Antiserum (Stamm Halle) die genannten Autoren andere Resultate erhielten wie wir, beruht wohl auf der Tatsache, daß eben ihr Gärtner-Bacillus (Stamm Halle a. S.) kein Original Gärtner war. Nach den bei den Schutzversuchen erhaltenen Ergebnissen kommen wir zu dem Schluß, daß die Versuche mit einem selbst hoch agglutinierenden Gärtner-Antiserum Tiere gegen die Infektion mit Gärtner oder Ratinbacillen zu schützen, keine Anhaltspunkte geben, um sie als Unterscheidungsmerkmale zur Einteilung unserer Bakterien zu verwerten.

Einen großen Wert für die Differentialdiagnose glauben Bahr, Rübiger und Grosso dem Agglutinationsphänomen nicht beimessen zu können, sie sagen: Nach Anstellung zahlreicher Agglutinationsversuche sind wir zur Ueberzeugung gelangt, daß sich die Agglutination zur Einteilung unserer Bakterien nicht eignet, und wir sehen daher von der Wiedergabe der Tabellen ab.

Erneute Agglutinationsversuche haben dasselbe Resultat gezeitigt, wie es schon von uns in unserer früheren Arbeit niedergelegt ist und von Mühlens, Dahm und Fürst (3) sowie von Lebram (7) bestätigt wurde. Es agglutiniert *B. enteritidis* Gärtner-Kaninchen-Antiserum sämtliche Gärtner-Stämme, soweit sie zur Untersuchung herangezogen wurden (Gärtner-Institut, v. Ermengem, v. Drigalski, Ges.-Amt, Moorseele, Gent, Brügge, Airtryk, Rumfleth, Haudstedt, sowie Ratin, Danysz und Dunbar), dagegen nicht oder nur bis zu einer Verdünnung von 1:100 Paratyphus B, Febris gastrica, Breslau, Düsseldorf, Greifswald, Lehr, Meirelbeck, Sirault, Neunkirchen, Westmann, Mäusetyphus, Schweinepest, Typhus, Paratyphus A, Coli. Ebenso verhält sich das geprüfte Ratin-Kaninchen-Antiserum, sowie Drigalski-Danysz- und Dunbar-Antiserum.

Daß das Agglutinationsphänomen als eine spezifische Erscheinung aufgefaßt werden muß, unterliegt wohl keinem Zweifel. Daß es vorkommt, daß Immunsera nicht nur diejenigen Mikroorganismen agglutinieren, mit denen die betreffenden Tiere vorbehandelt wurden, sondern bis zu einem gewissen Grade auch andere Bakterienarten, die jenen im System nahestehen und daß diese Erscheinung häufig bei der Typhus-Coli-Gruppe beobachtet wird, ist wohl jedem, der sich schon einmal mit vergleichenden Untersuchungen von Typhus, Paratyphus usw. befaßt hat, bekannt, ebenso wie, daß alle diese Tatsachen der spezifischen Bedeutung der Agglutinine keinen Abbruch tun können. Man muß eben immer im Auge behalten, daß hier die quantitativen Verhältnisse ausschlaggebend sind. Wenn also das spezifische Ratin-Kaninchenantiserum bis zu einer Verdünnung von 1:100 bei unseren Untersuchungen vereinzelte Vertreter der Paratyphus-B-Gruppe (Paratyphus B, Febris gastrica, Düssel-

dorf, Greifswald, Lehr, Sirault, Schweinepest, Typhus) mit agglutinierte, so kann dieser Umstand die Brauchbarkeit der Reaktion zur Einteilung unserer Bakterien nicht schmälern, um so mehr, wenn dieses spezifische Serum noch in 60000-facher Verdünnung auf den echten Gärtner, Ratin sowie die anderen Gärtner-ähnlichen Bakterien (van Ermengem usw.) wirksam war und umgekehrt Antiserum, mit echtem Gärtner hergestellt, bei einer Mitagglutination von Paratyphus B usw. bis zu 1:100, dann Ratin und die anderen Vertreter der Gärtner-Gruppe bis 1:3000 agglutinierte. Wir gelangen also auf Grund vorstehender Erwägungen zu dem Schluß, daß sich die Agglutination zur Einteilung unserer Bakterien bzw. Identifizierung des Ratinbacillus sehr wohl eignet.

Verhalten auf Fleischwasseragar mit Koffeinzusatz.

Nach den Untersuchungen von Bahr, Rübiger und Grosso bildet der Ratinbacillus bei Züchtung auf koffeinhaltigem Fleischwasseragar keine Fäden, während der Gärtner-Bacillus Fadenbildung im mikroskopischen Präparat zeigen soll.

Nachstehende Bakterien wurden auf Fleischwasseragar mit 0,8 Proz. Koffeinzusatz gezüchtet und von demselben mikroskopischen Präparate angefertigt (Tabelle III).

Tabelle III.

Bakterienstamm	Normalkultur	Pathologische Kultur		Bemerkung
		a) hängende Tropfen	b) im gefärbten Präparat	
Ratin	Kleine typhus-ähnliche Stäbchen, lebhaft beweglich	Verdickte Formen mit ausgesprochener Fadenbildung. Beweglichkeit vermindert	Verdickte Stäbchen, lange Stäbchen und ausgesprochene Fadenbildung	Die Versuche wurden mehrfach wiederholt und die Befunde von Unparteiischen festgestellt
Gärtner Original	Kleine typhus-ähnliche, lebhaft bewegliche Stäbchen	Verdickte Formen, lange Stäbchen, ausgesprochene Fadenbildung	Verdickte Formen, lange Stäbchen und ausgesprochene Fadenbildung	
van Ermengem	wie Ratin und Original Gärtner			
v. Drigalski	dgl.			
Ges. Amt.	dgl.			
Moorseele	dgl.			

Die Untersuchungen ergeben, daß der Ratinbacillus (gezüchtet aus einer Originalbüchse Ratin I) im Vergleich mit Original Gärtner und Gärtner-ähnlichen Bakterien auf koffeinhaltigem Nährboden keine Unterschiede erkennen läßt. Allerdings gibt es Stellen im Präparat, wo bei allen geprüften Bakterien Fadenbildung fehlt.

Virulenz und Bildung von Toxinen.

Nach van Ermengem (8) unterscheidet sich der Gärtner-Bacillus von den mehr oder weniger verwandten Arten durch seine ausgesprochene Virulenz und die bei den meisten Stämmen beobachtete Eigenschaft, Toxine zu liefern, die hohen Temperaturen gegenüber wider-

standsfähig sind. Die Gifte diffundieren in die Nährböden und lassen sich im keimfreien Filtrat nachweisen.

Versuch.

3 Mäuse wurden mit dem keimfreien Filtrat einer 14 Tage alten Ratinbouillonkultur geimpft.

Maus I	0,5	ccm	subkutan	†	nach 12 Stunden	} Organe, Blut keimfrei.
" II	0,25	"	"	†	" 18 "	
" III	0,1	"	"	†	" 36 "	

Der Versuch zeigt, daß auch der Ratinbacillus imstande ist, Toxine zu bilden, die bei subkutaner Impfung Mäuse innerhalb kurzer Zeit töten. Es unterscheidet sich der Ratinbacillus also auch in dieser Hinsicht nicht von dem echten Gärtner.

Der Ratinbacillus ist selbst in kleineren Dosen virulent für kleinere Versuchstiere, einschließlich kleiner nur mehrere Tage alter Kälber. Bei der Sektion ergibt sich Peritonitis, Gastroenteritis, Nephritis, lobuläre Pneumonie (10).

Der Gärtner-Bacillus (10) tötet in kleinen Quantitäten die empfänglichen Tierarten, Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Kälber unter Erscheinungen der fibrinösen Peritonitis, Gastroenteritis, Nephritis, lobuläre Pneumonie.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Ratin und echtem Gärtner ist auch hier nicht festzustellen.

Ueber die Unschädlichkeit der Ratinbacillen für Menschen sagen Bahr, Rübiger und Grosso: „Ueber die Schädlichkeit oder Unschädlichkeit der Ratinbacillen für Menschen entnehmen wir dem zweiten Jahresbericht des bakteriologischen Laboratoriums „Ratin“ in Kopenhagen, daß sich einzelne Personen freiwillig als Versuchsobjekte hergegeben haben, ohne irgendwelche Unpäßlichkeit trotz ausgedehnten Genusses der Kulturen zu verspüren. Auch in der Folgezeit traten bei den betreffenden Personen keinerlei Krankheitserscheinungen zutage.“ Wenn auch bei diesen Versuchen eine Pathogenität für Menschen nicht festgestellt werden konnte, so ist es bei dem ganzen biologischen, biochemischen und morphologischen Verhalten des Ratinbacillus — der doch aus dem Harn eines an Cystitis leidenden Knaben gezüchtet wurde —, nicht von der Hand zu weisen, daß gelegentlich eine Infektion vorkommen kann, so z. B. kann auch der sonst nur für Papageien pathogene Psittacosebacillus, der zum Paratyphus B dieselbe Stellung einnimmt wie der Ratinbacillus zum Gärtner, unter Umständen schwere Erkrankungen beim Menschen hervorrufen [Ritter, Nocard, Gilbert und Fournier (11)].

Ratin II.

Das Ergänzungspräparat Ratin II soll nach den auf den Blechdosen aufgeklebten Etiketten eine Bakterienkultur darstellen, welche die Ratten in kurzer Zeit (im Laufe von 2—8 Tagen) vernichten soll.

Das Ratin II, welches in Originalpackung bezogen wurde, stellte eine dicke breiartige Masse dar, welche anscheinend aus Brot bestand und mit einer rötlichen Flüssigkeit imprägniert war.

Die bakteriologische Untersuchung des Präparates ergab keinen Anhaltspunkt dafür, daß dasselbe mit Bakterienkultur hergestellt war. Die Verimpfung verschieden großer Quantitäten auf die verschiedensten Nährböden ergab in jedem Fall ein negatives Resultat, d. h. das Präparat erwies sich als vollkommen steril. Auch aus den Organen von Mäusen und Ratten, welche mit demselben gefüttert wurden und eingingen, konnte niemals ein Bakterium gezüchtet werden.

Die mit dem Präparat gefütterten Tiere gingen je nach der Menge, welche sie erhalten, nach kürzerer oder längerer Zeit ein oder blieben bei Verfütterung ganz kleiner Mengen auch am Leben. Bei den eingegangenen Tieren ergab die Sektion meist eine Gastroenteritis, zuweilen auch Dilatation des Herzens, bezw. Blutungen in das Myocard, Nephritis war fast in allen Fällen vorhanden.

Wurden andere Tiere mit den Organen der eingegangenen gefüttert, so blieben sie ausnahmslos am Leben.

Um festzustellen, ob etwa Bakterientoxine zur Herstellung des Präparats benutzt worden, wurde folgender Versuch angestellt. Ratinbouillonkulturen wurden 9–10 Tage bei 37° im Brutschrank gehalten. Die eine Hälfte der Flüssigkeit wurde mittels Berkefeld filtriert und auf Keimfreiheit geprüft, die andere Hälfte wurde unfiltriert mit konzentrierter Karbolsäure (4,0:1000,0) versetzt und nach 48 Stunden im Brutschrank gehalten, durch Papier filtriert und auf Keimfreiheit geprüft.

Mit beiden Lösungen wurden dann Brotwürfel imprägniert und teils an Ratten verfüttert, teils wurden dieselben subkutan geimpft.

subkutan geimpft	Ratte I	(Ratintoxinfiltrat 5 ccm)	†	nach 2 Tagen
	" II	(" " 5 ")	†	" 1 Tage
	" III	(Ratintoxin karbol. 5 ")	†	" 3 Tagen
	" IV	(" " 5 ")	†	" 1 Tage
	" Ia	(Ratintoxinfiltrat 5 ")	†	" 2 Tagen
	" IIa	(" " 10 ")	†	" 1 Tage
	" IIIa	(Ratintoxin karbol. 5 ")	†	" 3 Tagen
	" IVa	(" " 10 ")	†	" 2 "

Alle Tiere gingen nach kürzerer oder längerer Zeit ein. Die Organe zeigten mehr oder minder stark ausgesprochene Hyperämie bezw. Entzündungserscheinungen. Die Organe waren steril.

Nach den Untersuchungen von Mereshkowsky und Sarin (12) waren Auszüge von Ratin II selbst nach einstündiger Erhitzung bei 100° C noch für Ratten tödlich. Da das Bact. enteritidis stark hitzebeständige Gifte produziert, und auch der Ratinbacillus dieselbe Eigenschaft hat, so wurden vergleichende Untersuchungen über die Hitzebeständigkeit des Ratin II und der beiden Bakterientoxine angestellt.

Kleine Reagenzröhrchen wurden mit gleichen Mengen Ratin II, Ratinbouillontoxin und Gärtner-Toxin (Originalstamm) verschieden lange Zeit der Erhitzung bei 100° ausgesetzt, und subkutan gleiche Mengen (3 ccm) auf Ratten verimpft.

Dauer der Erhitzung	Ratin II (Extrakt)	Ratintoxin b	Enteritid. Toxin	Bemerkung
1/4 Std. bei 100°	Ratte † nach 7 Tagen	Ratte † nach 2 Tagen	Ratte † nach 2 Tagen	Die Bakterientoxine stammen von Stämmen, welche durch Tierpassage hochvirulent geworden waren. 1/10000 Oese tötet Mäuse in 24 Stunden.
1/2 " " 100°	Ratte † nach 6 Tagen	Ratte † nach 2 Tagen	Ratte † nach 2 Tagen	
3/4 " " 100°	Ratte † nach 7 Tagen	Ratte lebt	Ratte lebt	
1 " " 100°	Ratte † nach 8 Tagen	" "	" "	
1 1/2 " " 100°	Ratte † nach 10 Tagen	" "	" "	
" " 100°	Ratte † nach 10 Tagen	" "	" "	

Während beide Bakterientoxine schon nach einer $\frac{3}{4}$ -stündigen Erhitzung nicht mehr tödlich auf Ratten einwirkten, starben die Tiere noch nach Injektion von Ratin II, welches 2 Stunden bei 100° erhitzt worden war. Die Versuche ergaben bei mehrfacher Wiederholung dasselbe Resultat. Es erschien somit ausgeschlossen, daß das Ratin II bakteriellen Ursprungs sei, sicher aber, daß es sich vielmehr um eine andere Substanz handle, die tödlich für Ratten sei.

Es wurde deshalb eine chemische Untersuchung¹⁾ des Präparates vorgenommen.

Die anscheinend aus Brot bestehende Masse besaß deutliche saure Reaktion. Zur Neutralisation von 100,0 wurden 3,3 ccm $\frac{1}{1}$ NaOH verbraucht.

Bei der Analyse wurden folgende Werte gefunden:

Wasser	34,8	Proz.
Fett	0,3	"
N	0,7245	"
N-Substanz	4,53	"

Da nun die Durchschnittswerte für Brot nach König (14)

	Roggenbrot	Weizenroggenbrot
Wasser	33,66 Proz.	38,46 Proz.
Fett	1,14 "	0,3 "
N	1,03 "	1,19 "
N-Substanz	6,43 "	7,47 "

betragen, so dürfte die Vermutung wohl naheliegen, daß die Grundsubstanz der zur Untersuchung vorliegenden Masse des Ratin II im wesentlichen aus Roggen- bzw. Weizenbrot besteht. Bei der weiteren chemischen Untersuchung wurde nun zunächst das Augenmerk darauf gerichtet, ob die Wirksamkeit des Ratin II wohl auf Anwesenheit eines Metall- oder Pflanzengiftes (Alkaloid oder Glykosid) zurückzuführen wäre.

Da die Abwesenheit von Phosphor, des wohl einzig in Betracht kommenden flüchtigen Giftes, grobsinnlich schon festgestellt werden konnte, so wurde von einer weiteren Untersuchung darauf abgesehen.

Tabelle IV.

	Scillitoxin	Scillin	Ratin II	Delicia	Ackerlose	Ratinbouillontoxin	Meerzwiebel-extrakt
Aussehen des Rückstandes	zimmtbraun amorph	hellgelb kristallinisch	harzig gelbbraun	wie Ratin II	wie Ratin II	ganz gering weißlicher Rückstand	wie Ratin II
Rückstand mit konz. H_2SO_4	rot, dann braun	rotbraun	gelb, dann braun, schließlich rotbraun	wie Ratin II	wie Ratin II	braun	wie Ratin II
Rückstand mit HNO_3	schwachrot, dann orange-gelb bis grün	gelb, beim Erwärmen dunkelgrün	gelb, beim Erwärmen grün	wie Ratin II	wie Ratin II	nichts	wie Ratin II
Rückstand mit HCl	—	—	hellgelb	wie Ratin II	wie Ratin II	nichts	wie Ratin II
Rückstand m. konc. H_2SO_4 , Kaliumdichromat	—	—	zuerst rotbraun, dann schwarzblau	wie Ratin II	wie Ratin II	braun, dann rotbraun	wie Ratin II

1) Die chemische Untersuchung wurde in dem hygienisch-chemischen Laboratorium des Garnisonlazarets (Vorstand Korpsstabsapotheker Varges) vorgenommen.

Zur Untersuchung auf metallische Gifte wurde die Masse mit Salzsäure und chloresäurem Kali zerstört, das Filtrat sowie der Rückstand mittelst der üblichen Reagentien auf etwaige in Betracht kommende Metalle und deren Gifte geprüft. Die Untersuchung verlief resultatlos. Es blieb nur noch die Prüfung auf Pflanzengifte.

Die Untersuchung wurde nach der Methode von Stass Otto (15) durchgeführt.

Der mit Weinsteinsäure hergestellte alkoholische Auszug wurde durch mehrmaliges Behandeln mit Wasser bzw. absoluten Alkohol von etwaigen Harzen und Peptonen möglichst befreit, der erhaltene Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit Aether in saurer und alkalischer Lösung ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers verblieb ein harzartiger gelblicher Rückstand, der folgende Reaktionen gab.

1) Mit konzentrierter Schwefelsäure entstand zunächst eine gelbliche Färbung, die bald in braun, schließlich in rotbraun überging.

2) Mit konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumdichromat färbte sich der Rückstand zuerst rotbraun, dann schwarzblau, zuletzt grün.

3) Mit Salzsäure entstand eine hellgelbe Färbung.

4) Mit Salpetersäure konnte eine gelbe Färbung, die beim Erwärmen in grün überging, beobachtet werden.

Zum Vergleich wurden mit Ratinbouillontoxin dieselben Reaktionen vorgenommen. Es gab hierbei einen ganz geringen weißlichen Rückstand, welcher die vorbeschriebenen Reaktionen nicht gab, mithin also nicht identisch war mit dem Imprägnationsmittel des Ratin II. Auch ein Brotextrakt allein ergab nicht die für den Extrakt von Ratin II charakteristischen Reaktionen.

Da nach den Untersuchungen von Mereshkowsky und Sarin der Verdacht begründet erscheint, daß wir es im Ratin II mit einem Meerzwiebelextrakt zu tun haben, wurden zwei Rattenvertilgungsmittel, welche Meerzwiebelextrakt enthalten — Ackerlose und Delicia und ein Extrakt aus der roten Meerzwiebel zur vergleichenden Untersuchung herangezogen. In der Tat ergaben auch die Extrakte aus diesen beiden Präparaten und aus der Meerzwiebel genau dieselben Reaktionen, wie der Ratin-II-Extrakt. Vergleicht man nun die Reaktionen, welche die Bestandteile der Meerzwiebel¹⁾ und die Extrakte aus Ratin II, Meerzwiebel, Ackerlose und Delicia ergaben (Tabelle IV), so läßt sich mit einer an absoluter Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit der Schluß ziehen, daß wir es in dem Ratin II mit einem **Meerzwiebelextrakt** und nicht mit einem **Bakterienpräparat** bzw. den **Stoffwechselprodukten der Ratinbacillus** zu tun haben.

1) Aus der Literatur (15) läßt sich folgendes über die Bestandteile der Meerzwiebel entnehmen. *Bulbus scillae* enthält:

Scillitoxin, ein amorphes, zimmtbraunes Pulver, löslich in Alkohol, Aether und Wasser, färbt sich mit konz. H_2SO_4 rot, dann braun, mit HNO_3 schwach rot, dann orange gelb bis grün;

Scillipikrin, ein weißes amorphes Pulver;

Scillin, hellgelb, krystallinisch, schwer in Wasser, leicht löslich in Alkohol und kochendem Aether. Mit konz. H_2SO_4 wird es rotbraun, mit HNO_3 gelb, beim Erhitzen dunkelgrün;

Sinistrin, Kohlehydrat, als Schleim reichlich vorhanden;

ätherisches Oel;

einen aromatischen Stoff;

ein scharfes Weichharz;

Kalkoxalat, 3 Proz.;

Asche, 5 Proz., bräunlich;

Aus der Untersuchung mit Ratin II ergibt sich, daß die Schwere der Erkrankung der Ratten im Verhältnis zur gereichten Dosis Ratin II steht, während mit Bakterientoxinen die Tiere unabhängig von der Quantität Ratinbouillontoxin immer zugrunde gehen. Ratin II sowie Extrakte aus diesem Präparate sind selbst nach zweistündigem Erhitzen bei 100° C imstande, die Ratten sowohl bei stomachaler als auch subkutaner Einwirkung zu vernichten. Ratinbouillontoxin und Bact.-enteritidis-Gärtner-Bouillontoxin ist nach $\frac{3}{4}$ -stündiger Erhitzung nicht mehr für Ratten tödlich; Extrakt aus Ratin II, Meerzwiebel, Delicia, Ackerlose ergaben mit den einzelnen Reagentien (konz. H_2SO_4 , HNO_3 , konz. H_2SO_4 + Kaliumdichromat) dieselben Reaktionen, während Ratin-II-Bouillontoxin vollkommen verschiedene Reaktionen ergibt.

Ratin II enthält also Meerzwiebelextrakt, es ist kein Bakterienpräparat.

Schlusssätze.

1) Die Untersuchungen der kulturellen Eigenschaften des Ratinbacillus, des Original-Gärtnerstammes sowie der Gärtner-ähnlichen Bakterien (van Ermengem, v. Drigalski, Ges.-Amt., Moorseele, Gent, Brügge, Airtryk, Rumfleth, Haustedt, Dunbar, Danysz) ergaben in allen Teilen vollkommene Uebereinstimmung, insbesondere bezüglich des Wachstums auf Nährböden, welche bernsteinsaures Ammoniak enthalten.

2) Hinsichtlich des Gärungsvermögens und der Säurebildung auf zuckerhaltigen Nährböden ist zwischen dem Ratinbacillus, dem Original Gärtner und den Gärtner-ähnlichen Bakterien auch nicht der geringste Unterschied festzustellen, insbesondere wird Arabinose von allen gleichmäßig vergoren.

3) Durch die Agglutination mit hochwertigem Antiserum sind einerseits Ratinbacillus und Paratyphus B sicher zu trennen, andererseits Ratinbacillus vom Original Gärtner nicht zu differenzieren. Die Agglutination ist also zur Unterscheidung unserer Bakterien gut brauchbar.

4) Ratin, Kaninchenantiserum (Titer 1:60000) schützt nicht gegen die Infektion mit Ratin und Gärtner-Bacillus, ebensowenig Gärtner-Kaninchenantiserum (Titer 1:3000). Schutzversuche mit Immunerum geben also keine positiven Anhaltspunkte für Unterscheidungsmerkmale, andererseits läßt der negative Ausfall auf Artverwandtschaft zwischen Ratinbacillus und Bact. enteritidis Gärtner schließen.

5) Auf Fleischwasseragar mit Zusatz bis 0,8 Proz. Koffein lassen der Ratinbacillus sowie sämtliche Gärtner-Bacillen kolbig verdickte Formen, lange Stäbchen und ausgesprochene Fadenbildung erkennen.

6) Der Ratinbacillus bildet ebenso wie der Gärtner-hitzebeständige Toxine, welche bei den Versuchstieren die gleichen Krankheitserscheinungen hervorrufen.

7) Aus den angestellten vergleichenden Untersuchungen geht zweifellos hervor, daß zwischen dem Ratinbacillus und dem echten Gärtner (Original, Institut Jena) und den anlässlich von Fleischvergiftungen ge-

züchteten Gärtner-ähnlichen Bakterien sowohl in kultureller wie morphologischer Beziehung als auch bezüglich des biochemischen Verhaltens die von anderer Seite aufgestellten Unterschiede nicht bestehen.

8) Nach den eingehenden Untersuchungen einer großen Anzahl von Autoren¹⁾ erscheint es nicht zweifelhaft, welche biochemischen, biologischen und morphologischen Eigenschaften dem Bact. enteritidis Gärtner zukommen und wie er sich zum Bacillus paratyphosus B und den Ratinbacillus verhält.

9) Ratin II, welches als eine Bakterienkultur, die unter den Ratten eine ansteckende und vernichtende Krankheit hervorrufen soll, bezeichnet wird, ist kein Bakterienpräparat bzw. Kultur, denn:

a) Das Eintreten der Krankheitserscheinungen, deren Stärke und Ausgang stehen in direktem Verhältnis zur aufgenommenen Menge Ratin II.

b) Ratin II sowie Extrakte aus diesem Präparat sind nach zwei-stündigem Erhitzen bei 100° noch imstande, Ratten zu vernichten, während die Ratin- und Bact.-enteritidis-Gärtner-Toxine bereits nach $\frac{3}{4}$ -stündiger Erhitzung bei gleicher Temperatur nicht mehr imstande sind, die Ratten zu töten.

c) Die chemische Untersuchung der Extrakte aus Ratin II, Meerzwiebel, Ackerlon, Delicia, erzielt mit den angewandten Reagentien vollkommene Uebereinstimmung. Dagegen Verschiedenheit vom Ratinbouillontoxin. Ratin II ist daher ebenso wie die bekannten Meerzwiebelpräparate, Ackerlon und Delicia, mit Meerzwiebelextrakt hergestellt.

Der Vorwurf, unsere Untersuchungen „Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel“ hätten eine unvollkommene Behandlung insofern erfahren, als Ratin II nicht mit in das Bereich der Untersuchungen einbezogen wäre, und es seien Versuche mit Ratin ohne Berücksichtigung des Ergänzungspräparates Ratin II bedeutungslos und könnten nicht als maßgebend hingestellt werden, ist vollkommen hinfällig, da unsere Untersuchungen sich auf den Ratinbacillus, aber nicht auf Meerzwiebelextrakt bezogen haben.

Literatur.

- 1) Trautmann, Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 54. 1906.)
- 2) Xylander, Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28. 1908. Heft 1.)
- 3) Mühlens, Dahm und Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritidisgruppe Typus Gärtner und Typus Flügge), insbesondere über die sogenannten Fleischvergiftungs-erreger und die sogenannten Rattenschädlinge. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908.)

1) Siehe Literaturverzeichnis und Kolle-Wassermann, Pathogene Mikroorganismen-Ergänzungsband (Kutscher, Paratyphus) und Bd. 2 (van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen).

- 4) Bahr, Rübiger und Grosso, Vergleichende Untersuchungen über den *Bacillus paratyphosus* B, den *Bacillus enteritidis* Gärtner und den *Ratinbacillus*. (Zeitschr. f. Infektionskrankh., parasitäre Krankh. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. 5. Heft 3/4.)
- 5) Seiffert, Studien zur *Salmonellagruppe* (*Paratyphus-B-Gruppe*). (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 63. Heft 2.)
- 6) Fischer, Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 39. p. 506.)
- 7) Lebram, *Ratinbacillus* und *Bacillus enteritidis* Gärtner. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 50. Heft 3.)
- 8) van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 2.)
- 9) Bahr, Rübiger und Grosso, l. c. p. 4.
- 10) van Ermengem, ebenda (s. No. 8).
- 11) Zitiert nach Kutscher, *Paratyphus*. (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Ergänzungsband.)
- 12) Mereshkowsky und E. Sarin, Ueber das *Ratin* II. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 51. Heft 1.)
- 13) König, J., *Nahrungs- und Genußmittel*. Berlin 1904.
- 14) Autenrieth, Die Auffindung der Gifte und stark wirkender Arzneistoffe. München 1903.
- 15) a) Lörnig, *Arzneidrogen*.
 b) Husemann-Hilger, *Pflanzenstoffe*.
 c) Hertwich, Ueber die Meerzwiebel. (Arch. Pharm. 1899. p. 227.)
 d) Helfenberg, *Annal.* 1904.
 e) Möller, *Inaug.-Diss.* Göttingen, 1878.
 f) Merk, E., *Pharm. Zeitg.* 1879.

Nachdruck verboten.

Die Furunkuloseepidemie der Salmoniden in Süddeutschland.

[Aus der Königl. Bayer. Biolog. Versuchsstation für Fischerei in München.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Marianne Plehn.

In diesem Sommer wurde in zahlreichen Flüssen Süddeutschlands von der österreichischen bis zur französischen Grenze ein Fischsterben beobachtet, das stellenweise sehr bedenkliche Dimensionen annahm. Es waren betroffen: Bachforellen, Bachsaiblinge und Aeschen, während, soweit man bis jetzt urteilen kann, die Regenbogenforellen verschont blieben. Die ersten Nachrichten über die Seuche liefen Mitte Juni ein; jetzt, Ende September, ist in vielen der betroffenen Flüsse ein Nachlassen zu bemerken, während doch von einem völligen Erlöschen noch nicht gesprochen werden kann. —

Die anatomische Untersuchung der verendeten Fische zeigt völlige Uebereinstimmung mit der von Emmerich und Weibel im Archiv für Hygiene, Bd. 21 (1894) beschriebenen Furunkulose, auch der klinische Verlauf ist der gleiche. — In allen Fällen, die frisch genug zur Untersuchung kamen, konnte aus dem Blut und aus den inneren Organen ein Bakterium meist in Reinkultur gezüchtet werden, das zwar eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Emmerichschen *Bacterium salmonicida* besitzt, sich in einigen kulturellen Eigentümlichkeiten aber doch nicht unwesentlich unterscheidet.

Im Tierkörper zeigt es wie jenes die Gestalt eines kurzen Stäbchens, auf Gelatine dagegen nähert es sich der Kugelform; es wächst auf

Gelatine sehr rasch und bildet Gas, wenn auch nur in geringen Mengen. Zur Entwicklung eines tiefen Lufttrichters wie beim *Bact. salmonicida* (Emm. und W.) kommt es nicht; die Verflüssigung geht viel rascher vor sich, so daß nur ganz oben im Gelatinestich eine lufthaltige Einsenkung das Bestehen einer Zehrung des Nährbodens beweist.

Schon nach etwa 10 Tagen beginnt die Gelatine sich braun zu färben, die Farbe ist nach 3 Wochen kaffeebraun und kann später in ein tiefes Schwarzbraun übergehen.

Eine ganz ähnliche Verfärbung ist auch in der Bouillonkultur zu bemerken, nur daß sie dort langsamer eintritt; auch in Bouillon wird das Stäbchen kürzer, nahezu kuglig. Eigenbewegung besitzt es nicht.

Bei Behandlung nach Gram findet Entfärbung statt.

Auf Agar ist das Wachstum sehr spärlich, die Bakterien degenerieren; sie werden zu langen Stäbchen, die zum Teil blasig aufgetrieben erscheinen; bei Rückzüchtung auf Gelatine sieht man die kurzen Formen wieder erscheinen.

Auf der Kartoffel findet ein deutliches, wenngleich langsames Wachstum statt; auf diesem Nährboden verändert sich die Form am wenigsten, die kurzen Stäbchen haben nach 14 Tagen noch die gleiche Gestalt.

Eine ausführliche Beschreibung der Krankheit und ihres Erregers wird in den Berichten der Königl. Bayer. Biologischen Versuchsstation erfolgen.

Nachdruck verboten.

***Leishmania tropica* im peripheren Blute bei der Dehlibeule.**

Von Prof. Dr. med. et phil. **R. O. Neumann**, Heidelberg.

Die Dehli- oder Aleppobeule, welche sowohl in den Tropen wie auch in den verschiedenen gemäßigteren Zonen vorkommt, wird bekanntlich nur als ein rein lokaler Krankheitsprozeß aufgefaßt, der sich auf die entblößten Körperstellen, meist das Gesicht und die Extremitäten erstreckt und durch einen kleinen Parasiten aus der Klasse der Protozoen, der *Leishmania tropica*, verursacht wird. Dieser Organismus ist mit dem Erreger des Kalaazar oder der tropischen Splenomegalie, der *Leishmania donovani*, in morphologischer Beziehung außerordentlich nahe verwandt, wiewohl das Krankheitsbild des Kalaazar ein ganz anderes, schweres, meist zum Tode führendes ist, wobei die Parasiten in den verschiedenen inneren Organen in großen Mengen angetroffen werden.

Ein innerer Zusammenhang dieser beiden Krankheiten, etwa in dem Sinne, daß die Orientbeule ein gewisses Anfangsstadium des Kalaazar bilde, wird verneint, weil in vielen Kalaazargegenden keine Dehlibeule vorkomme und dort, wo Dehlibeule endemisch sei, Kalaazar fehle.

Sei dem wie ihm wolle, der Zusammenhang beider Krankheiten muß uns ein bestimmtes Interesse abnötigen, da das gefährliche Kalaazar aus rein tropischen Gegenden sich in gemäßigte Zonen auszubreiten scheint; ist doch bereits jüngst ein Fall in Wien — aus Odessa eingeschleppt — bekannt geworden. Außerdem haben Nicolle in Tunis bei kindlicher Splenomegalie, welche Pianese in Calabrien zuerst beobachtete, und

Nicolle nebst Comte auch bei Hunden Parasiten vom Typus *Leishmania* festgestellt.

Ein Hauptargument, daß die Dehlibeule eine rein lokale Erkrankung sei, bildet die Tatsache, daß bisher im peripheren Blut noch niemals Parasiten angetroffen wurden, während bei Kalaazar dies wiederholt der Fall gewesen ist.

Um so bemerkenswerter scheint es nun zu sein, daß ich in einem typischen Falle von Dehlibeule, in der Zeit, als die heranwachsende Pustel am Unterarm eben an der Oberfläche einzuschmelzen begann, im peripheren Blut aus einem Finger des affizierten Armes die charakteristischen Parasiten von *Leishmania tropica* auffinden konnte. Der Fall betraf einen Kollegen, Herrn Dr. Urstein, der bei seiner Tätigkeit im südlichen asiatischen Rußland die Beule 1906 akquiriert hatte. Wir haben seit dem Aufbruch der Beule gemeinsam die Affektion in ihrem Verlauf bis zur vollkommenen Heilung genau verfolgt, die Zu- und Abnahme der Parasiten kontrolliert, den Prozeß auch eingehend bakteriologisch untersucht und beabsichtigen darüber noch einige Mitteilungen unter Beigabe von verschiedenen Stadien der Beule während des Heilungsverlaufs an anderer Stelle zu bringen¹⁾. Hier sollen nur noch einige Punkte angeführt sein, die zu dem Blutbefund im unmittelbaren Zusammenhang stehen.

Dr. Urstein hatte Transkaspien im März 1906 verlassen und bemerkte etwa Mitte Juli am rechten Handgelenk eine kleine entzündliche Erhabenheit, die von ihm damals aber unbeachtet blieb, weil sie als Mückenstich gedeutet wurde. Erst als sie nicht mehr verschwinden wollte, kam Dr. Urstein auf den Gedanken, daß es sich um eine Orientbeule handle.

Anfang August trat plötzlich Fieber ein bis über 40°, welches nach kurzer Zeit wieder vorüberging. Eine damals angestellte Blutuntersuchung führte aber zu keinem positiven Ergebnis. Etwa am 15. Nov., zu der Zeit, wo Bettmann den ersten Einstich in die Pustel machte und hier die Parasiten färberisch nachgewiesen werden konnten, war die Pustel selbst geschlossen und sezernierte nicht. Es zeigte sich aber bereits eine leichte Einsenkung im Zentrum. Fieber bestand bei dem Patienten nicht, Milztumor war nicht vorhanden, nur die rechte Cubitaldrüse war geschwollen. Die Untersuchung des Blutes aus der Fingerkuppe ergab — wie Bettmanns Bericht lautet — „keinerlei gröbere Abweichungen von der Norm, auch keine besondere ‚Blutformel‘.“

Wenige Tage später (am 15. Nov. 1906) erhielt v. Wasielewski „durch Einstich in die Haut am entzündlich geröteten Rand der Beule“ Blut, in welchen „sehr vereinzelte“ Parasiten im gefärbten Präparat nachgewiesen werden konnten.

Innerhalb weiterer einzelner Tage hatte sich die Affektion so weit entwickelt, daß die Pustel geöffnet war und die Entnahme von etwas Sekret mittels eines Platinspatels leicht gelang. Das entnommene Material enthielt zahlreiche Parasiten. Da sich an diesem Tage bei Dr. Urstein wieder leichtes Fieber eingestellt hatte, so wurde auf seine Veranlassung von mir auch eine Untersuchung des peripheren Blutes aus dem Finger vorgenommen, wobei

1) Klinische Details wurden von Dr. Urstein in der Therapie der Gegenwart (Sept. 1906) und der Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6 mitgeteilt. Den morphologischen Befund dieses Falles haben Bettmann und v. Wasielewski im 5. Beiheft des Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909 beschrieben.

es gelang, im Blut Parasiten nachzuweisen. Die Beule war etwas schmerzhaft, das Handgelenk etwas dicker als normal. Die Parasiten fanden sich frei im Blut, nicht in Zellen eingeschlossen.

Weitere Blutuntersuchungen fanden statt am 15., 22., 26., 31. Dez. ohne Parasitenbefund, bis am 2. Jan. 1907 noch einmal bei der Durchsicht einer großen Reihe von Präparaten ein charakteristisches Körperchen, in Teilung begriffen, gefunden wurde. Auch an diesem Tage fühlte sich Dr. Urstein matt, die Temperaturerhöhung war aber nur eine geringe. Bei allen weiteren Untersuchungen des peripheren Blutes, die am 10. Jan., 16. Jan., 24. Febr., 29. März, 2. Mai, 25. Mai 1907 und am 24. Mai 1909 gemacht wurden, ließen sich trotz sorgfältigstem Nachsuchen keine Parasiten mehr finden.

Die späteren Prüfungen, der Beule selbst, die mit der Untersuchung des peripheren Blutes parallel gingen, ergaben bis zum 16. Jan. 1907 jedesmal *Leishmania tropica*, wenn auch immer mehr in geringerer Anzahl. Vorgreifend möchte ich hier erwähnen, daß die schönen großen eigentümlichen Zellen, die oft gefüllt mit Parasiten waren, nur etwa in den ersten 4—6 Wochen angetroffen wurden. Später traten kleinere Zellen in den Vordergrund, die endlich polynukleären Leukocyten Platz machten, in denen 1—2—3 Parasiten aufgenommen waren. Ob diese Beobachtungen auch in anderen Fällen so zutreffen, vermag ich aus der Literatur nicht zu entnehmen, die Vermutung liegt aber nahe, daß dies so ist, da bei dem Wachstum der Beule resp. beim Fortschreiten des Gewebszerfalls und Vergrößerung der Pustelöffnung immer mehr Bakterien sich ansiedeln, die allmählich das Feld beherrschen und auch dort zerstörend weiter wuchern, wo früher eine dichte Ansiedelung von den protozoischen Parasiten war, die sich in den eigenartigen großen Zellen festgesetzt hatten. Die Parasiten wurden jedenfalls immer geringer, und wenn auch mehrere Monate nach Oeffnung des Geschwüres in anderen Fällen noch Parasiten gefunden worden sind, so scheint doch die Produktion derselben später nur noch eine minimale zu sein. Man kann sich leicht vorstellen, daß bei der Zunahme der Bakterien, bei der die Leukocyten an den gefährdeten Stellen bekanntlich eine außerordentlich starke Vermehrung erfahren, auch eine Unmenge von *Leishmania*-Parasiten phagocytiert und unschädlich gemacht werden. Daher auch der reichliche Leukocytenbefund mit eingeschlossenen Parasiten in den späteren Perioden der Beule.

Ueber den bakteriologischen Befund soll an dieser Stelle weiter nichts erwähnt werden.

Betrachten wir den Zustand des Patienten während der Entwicklungsperiode seiner Beule, so fällt auf, daß, während sonst sein Allgemeinbefinden nicht gestört war, von Zeit zu Zeit Fieber auftrat, und in zwei solchen Fieberanfällen wurden Parasiten mit Sicherheit im peripheren Blut nachgewiesen. Unmöglich wäre es nicht, daß auch bereits im August 1906, als bei dem erstmaligen hohen Fieber, schon *Leishmania*-Parasiten im Blute gekreist haben, doch der damals in München erhobene Befund „Pigment und eine ganz eigentümliche Zelle, deren Deutung schwierig war“, lassen keinen sicheren Schluß zu, besonders da das betreffende Präparat zur Nachkontrolle nicht aufgehoben worden ist. Am 29. März 1907 stellte sich nochmals leichtes Fieber mit Mattigkeitsgefühl ein. Diesmal waren aber keine Parasiten mehr nachweisbar, was

aber natürlich nicht absolut ausschließt, daß nicht doch das Blut noch welche enthielt.

Vielleicht waren sie nur noch spärlicher als bei der Untersuchung am 2. Jan. 1907. Bemerkenswert scheint mir, daß Dr. Urstein nach völliger Abheilung seines lokalen Krankheitsherdes gelegentlich dieselben Mattigkeitsgefühle und leichte Fieberanfälle wie zur Zeit des florierenden Geschwürs verzeichnete und ganz neuerdings, nach länger als 2 Jahren, am 24. Mai 1909 wiederum mir dieselbe Beobachtung mitteilte. Auch diesmal war das Blut ohne Parasitenbefund. Bei meiner ersten Untersuchung des peripheren Blutes schienen mir die Leukocyten vermehrt und es zeigten sich eine größere Menge eosinophile Zellen, die später und jetzt nicht mehr zu finden waren. Falls nicht etwa Darmparasiten mit im Spiele waren (der Stuhl wurde leider nicht untersucht, Dr. Urstein will aber bewußt nie an Würmern gelitten haben), müßte die Eosinophilie wohl auf das bestehende Krankheitsbild zurückgeführt werden.

Ob es richtiger ist, anzunehmen, daß die Parasiten von der Infektionsstelle nur direkt nach dem nächstgelegenen peripheren Ende des Armes, den Fingern, verschleppt waren oder ob sie auch im Blute der inneren Organe kreisten, darüber ist natürlich nichts Sicheres auszusagen, jedenfalls waren sie im zirkulierenden Blute vorhanden und es scheint mir auf Grund dieser Befunde notwendig zu sein, ein Augenmerk darauf zu haben und in geeigneten Fällen auch die Züchtung aus dem Blute zu versuchen. Ueber den Zusammenhang zwischen Kalaazar und Dehlibeule ist damit allerdings noch nichts Bestimmtes anzugeben, doch ist dies ein Weg, um über den Einfluß der Parasiten der Dehlibeule auf den Gesamtorganismus Aufschluß zu erlangen.

Nachdruck verboten.

Die Zecken und Piroplasmen des Igels.

[Aus dem Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin (Abteilung A. Wladimiroff) und der bakteriologischen Veterinärstation des Ssaratowschen Gouvernements-Semstwo.]

Von **W. L. Yakimoff.**

Mit 1 Tafel.

Während die Piroplasmose verschiedener Haustiere verhältnismäßig gut erforscht ist, wissen wir noch recht wenig über die Piroplasmose wilder Tiere. Es ist aber kaum anzunehmen, daß unter den letzteren die Verbreitung dieser Art von Infektion eine geringere sei.

In der vorhandenen Literatur finden wir über diese Frage folgende Angaben: A. Bettencourt, C. França und J. Borges (1) haben Piroplasmen beim *Cervus dama* in Portugal gefunden, Denier (2) beim *Cervus Aristotelis* in Annam, Theiler (3) und ebenso Ross (4) beim Zebra, P. Ross (5) bei 14 Affen (*Cercopithecus*) in Ouganda, A. Lingard und E. Jennings (6) bei Elefanten, Affen und Cerviden. Was die Piroplasmose der kleinen wildlebenden Tiere betrifft, so sind uns nur zwei Angaben bekannt. C. Nicolle (7) fand Piroplasmen bei einem Nager, *Ctenodactylus Gandi*; er nannte sie *Piroplasma quadrigeminum* und stellte sie der *Leishmania* nahe. França (8)

beobachtete die Piroplasmose der Pharaonenratte, *Herpestes ichneumon*, aus der Umgegend von Lissabon.

Im Juli 1908 gelang es mir im Kreise Ssaratow (in der Umgebung des Dorfes Dochturowka) an einer großen Zahl von Igeln (*Erinaceus europaeus*) eine Piroplasmose aufzufinden.

Das Relief der Gegend, wo diese Igel gefangen worden waren, ist sehr uneben: Hügel und erhöhte Plateaus wechseln mit kleinen Tälern und tiefen Schluchten. In der Mitte ist das Gebiet von einem Flüschen durchzogen; hier und da finden sich stehende, halb von Buschwerk verwachsene Teiche. Die Niederungen sind sehr feucht und ebenfalls mit niederem Buschwerk bedeckt. Hier hausen sehr viel Zecken (zu den Familien *Rhipicephalus* und *Dermatocentor* gehörig). Tiere, insbesondere Hunde und Pferde, aber auch Menschen, welche die Niederungen durchstreifen, werden von den Zecken in großer Menge attackiert.

Um die Mitte des Juli verfügte ich über 26 größere und kleinere Igel, von denen viele mit den Nymphen einer Zecke besetzt waren. Die Nymphen fanden sich fast ausschließlich zwischen den weichen Haaren der Tiere: am Bauch, an den Füßen, um Schwanz und After, an der Schnauze, besonders in der Nähe der Augen und auf den Ohren. Nur in einem Falle fanden wir eine vereinzelt Nymphen zwischen den Rückenschacheln. Einige Igel waren so dicht mit diesen Insekten besetzt, daß sie von ihnen vollkommen bedeckt zu sein schienen.

Wir sammelten die Parasiten ab und schickten einige Exemplare davon an Dr. E. J. Marzinowky, welcher sie als Nymphen der Zecke *Dermatocentor reticulatus* bestimmte. Letzterer ist in der betreffenden Gegend als Ueberträger der Pferdepiroplasmose sehr verbreitet.

Die Auffindung der Nymphen des *Dermatocentor reticulatus* ist insofern von Interesse, als es bisher nicht mit Sicherheit bekannt war, auf welchen Tieren diese Zecke im Nymphenstadium parasitiert. Freilich haben einige Autoren die Vermutung ausgesprochen, daß es kleine Feldtiere mit dünner Haut sein müßten, weil der Stechapparat in diesem Stadium nicht genügend entwickelt ist, um die dicke Haut größerer Tiere zu durchdringen, und Dönitz hat sogar ausdrücklich Feldmäuse und Igel verdächtigt, Träger dieser Nymphen zu sein. Dank unserem zufälligen Befunde kann man nunmehr die Tatsache als feststehend betrachten, daß Igel (und Feldmäuse — bei einer Feldmaus — haben wir eine solche Nymphen an der Basis des Ohres haftend gefunden) als Zwischenwirte für die Nymphen des *Dermatocentor reticulatus* dienen.

Noch einen zweiten Befund haben wir an diesen Igeln erhoben, und zwar das Vorhandensein von Piroplasmen in ihrem Blut.

Ausstrichpräparate vom Blut aus der Schwanzspitze der Igel wurden in der zweiten Hälfte des Juli in großer Anzahl angelegt, konnten aber aus äußeren Gründen nicht vor der Mitte des September gefärbt werden. Am 13. September fand ich nun auf der Mehrzahl der Präparate Piroplasmen. Von meinen 26 Igeln erwiesen sich 16 (61,5 Proz.) als infiziert.

Der Grad der Infektion war ein verschiedener. Nach meinen Aufzeichnungen hatten:

- 4 Igel viel Piroplasmen
- 10 „ wenig „
- 2 „ sehr wenig Piroplasmen
- 10 „ keine Piroplasmen

Als ich das Vorhandensein dieser Parasiten im Blute der Igel konstatiert hatte, sorgte ich für den Fang neuer Tiere. Im September war jedoch bereits Kälte eingetreten, und die Igel hatten sich zum Winterschlaf in ihre Höhlen verkrochen. So konnte ich nur 8 Exemplare erhalten. Von diesen erwiesen sich 4 als infiziert (einer davon sogar sehr stark) und 4 frei von Blutparasiten. Mithin hatten von der Gesamtzahl 34 20 Igel (58,8 Proz.) Piroplasmen im Blute.

Es sei noch bemerkt, daß die älteren Tiere verhältnismäßig schwächer infiziert waren als die jüngeren, wie ja auch die kleineren Exemplare am stärksten von den Nymphen heimgesucht waren. Der Grad der Infektion konnte ein recht bedeutender sein; so zählten wir, daß bei einem Tiere unter 1000 roten Blutkörperchen 112 (11,2 Proz.) Piroplasmen trugen.

Die vorherrschende Gestalt der Parasiten ist die ringförmige, und zwar sieht man zwei Sorten von Ringen: große und kleine. Ich bin geneigt, die kleinen Ringe für junge Parasiten zu halten. Diese Ansicht findet eine Stütze in dem Umstand, daß man bisweilen in einem einzelnen Erythrocyten einen großen und zugleich mit ihm mehrere (gewöhnlich 4) kleine Ringe sehen kann, welche dann meist als regelmäßige Figur :: angeordnet sind. Im peripheren Blute geht der Durchmesser der großen Ringe nicht über 1,5—1,9 μ hinaus; derjenige der kleinen ist sehr unbedeutend. Im Herzblut sind die Dimensionen der Parasiten noch kleiner.

Von den beiden Teilen des Parasiten, des Protoplasma und dem Karyosoma, nimmt das erstere, nach Giemsa, Leishman oder ähnlichen Methoden behandelt, eine blaue Farbe an, das Karyosoma eine leuchtend rote.

An einzelnen Parasiten kann man Teilungsformen unterscheiden. Die Teilung beginnt am Karyosoma, und zwar in 2 oder 4 Teile. Bei gelungener Färbung kann man an einzelnen Individuen auch die Spaltung des Protoplasmas in die entsprechende Anzahl von Teilen erkennen. Die abgetrennten jungen Parasiten lagern sich in der oben beschriebenen Anordnung. Durchmustert man ganze Reihen von Präparaten, so kann man verfolgen, wie diese kleinen Formen an Größe zunehmen und die Dimensionen der großen Ringe erreichen. Von diesen letzteren werden gewöhnlich in einem Erythrocyten nicht mehr als 1—2 angetroffen; die übrigen emigrieren aller Wahrscheinlichkeit nach aus dem Blutkörperchen und bilden die frei im Plasma schwimmenden Organismen, welche als Gameten angesprochen werden dürfen.

Eine andere, sehr seltene Form bilden die zigarrenförmigen Parasiten, welche nur im peripheren Blute zu finden sind. Die Karyosomen einiger solcher Exemplare zeigen Neigung zur Teilung.

Wir haben vergeblich nach birnenförmigen Parasiten gefahndet, konnten aber keine finden; denn die raren Exemplare, welche auf unseren Zeichnungen 13, 17, 18 und 19 abgebildet sind, dürfen wohl nicht zu den birnenförmigen Organismen gezählt werden.

Die Piroplasmen kommen nicht nur in den gewöhnlichen kernlosen Erythrocyten vor, sondern auch in den kernhaltigen, und in diesen wiederum nicht nur im Protoplasma, sondern auch in den Kernen selbst. In solchen Normoblasten finden sich sowohl große als auch kleine Ringformen, und bisweilen werden auch neben diesen Blutzellen frei im Plasma liegende kleine Parasiten angetroffen.

Bei starker Infektion zeigt das Blut auch sonstige Veränderungen:

Polychromatophilie der Erythrocyten, Poikilocytose, Normoblastie, ziemlich reichliche Auflösungsformen sowohl von Leukocyten als auch von Erythrocyten. Der Farbenindex, beurteilt nach dem Vergleich gefärbter Präparate von gesunden und von infizierten Tieren ist geringer als 1.

Von den pathologisch-anatomischen Veränderungen sind starke Vergrößerung der Milz (um das 4—6-fache über die Norm) und Hyperämie der Leber zu nennen.

Die nächste Frage, welche wir uns vorlegen mußten, bestand darin, ob die von uns bei den Igeln gefundene Piroplasmose identisch ist mit derjenigen der Pferde, welche in derselben Gegend vorkommt. Die Frage ist um so begründeter, als bei der Krankheit beider Tierarten die Rolle des Ueberträgers ein und dieselbe Zecke, der *Dermacentor reticulatus*, spielt, wenn auch in verschiedenen Entwicklungsstadien: als Nymphe bei den Igeln, als geschlechtsreife Zecke bei den Pferden. Die Infektion mit Piroplasmen beschränkt sich ja bei dieser Zecke nicht auf irgendeinen bestimmten Entwicklungszustand, sondern geht auch auf die folgenden Stadien über. So wandert der Infektionsstoff, wenn er von geschlechtsreifen Zecken aufgenommen wird, durch die Eier in die Larven, die Nymphen und endlich wieder in die geschlechtsreifen Individuen.

Die Identität der beiden Piroplasmosen vorausgesetzt, kann man sich folgende zwei Möglichkeiten vorstellen.

Entweder: die gesunde geschlechtsreife Zecke nimmt vom piroplasmosekranken Pferde den Infektionskeim auf und überträgt ihn auf seine Eier, von wo er auf die Larven und sodann auf die Nymphen übergeht. Die letzteren befallen den Igel und infizieren diese Tierart mit der Piroplasmose der Pferde.

Oder aber: die noch nicht infizierte Nymphe infiziert sich erst am Igel mit dessen Piroplasmen. Nach Umwandlung in die geschlechtsreife Form, in welche auch die Krankheitserreger mitübergehen, setzt sich die Zecke am gesunden Pferd an und überträgt auf dieses die Piroplasmose der Igel.

Wir würden somit, im Falle der Identität der beiden Piroplasmosen, in dem Igel den eigentlichen Infektionsträger zu sehen haben, ganz analog dem, wie es das große afrikanische Wild für die Nagana ist, oder das Krokodil für die Schlafkrankheit, der Karpingo für das Mal de Caderas usw.

Um nun der Identitätsfrage näherzutreten, habe ich gemeinsam mit Herrn A. A. Winogradoff, dem Leiter der bakteriologischen Veterinärstation zu Ssaradow, folgenden Versuch angestellt:

Am 2. September 1908 wurden einem weiblichen Füllen von 6 bis 7 Monaten 4 Zecken¹⁾ (Weibchen) am Halse angesetzt, und zwar zwei neben der Mähne — diese saugten sich sofort fest — und zwei zwischen die Haare der Mähne. Darauf wurde der Hals doppelt mit Marly und Leinwand verbunden. Am nächsten Tage war keine der Zecken mehr zu finden. Darauf hin wurden noch 2 Weibchen und 2 Männchen unter einem Stück Marly angesetzt, dessen Ränder mit Heftpflasterstreifen an die Haut festgeklebt wurden. Darüber kam wiederum der Verband, welcher bis zum 11. September unberührt blieb. Bei seiner Abnahme erwies er sich als im ganzen verschoben. 1 Weibchen fand sich am Mähnenrande in stark vollgesogenem Zustande, 1 Männchen

1) Die Zecken waren aus Nymphen gezüchtet, welche von kranken Igeln abgenommen waren.

in der Mähne selbst. Erneuerung des Verbandes auf 2 Tage. Als er am 13. September abgenommen wurde, war das vollgesogene Weibchen nicht mehr vorhanden; an der Stelle, wo es gesessen hatte, fand sich eine Spur von angebackenem Blut. An demselben Tage wurden wiederum 2 Zecken (Männchen) angesetzt, und zwar dieses Mal an der unbehaarten Unterseite der Schwanzröbe, 10—15 cm von ihrer Basis, worauf der Schwanz bandagiert wurde. Im Blut vom Ohr des Füllens waren auf Ausstrichpräparaten keine Parasiten zu sehen. Am 15. September wurde eine der Zecken festgesaugt gefunden; tags darauf war sie schon abgefallen. Auf den Blutpräparaten, welche bis zum 2. Oktober fast täglich angefertigt wurden, fanden sich keine Parasiten. Während der ganzen Beobachtungszeit hatte das Füllen niemals gefiebert.

Da dieser Infektionsversuch mit Zecken fehlgeschlagen war, beschloß ich, das Füllen direkt mit Blut zu infizieren. Zu diesem Zweck wählte ich einen jungen Igel mit einer ungeheuren Menge von Parasiten im Blute, tötete ihn durch Chloroform, saugte das Blut aus seinem Herzen auf und mischte es mit einer Lösung von Natrium citricum. Mit diesem Gemisch infizierte ich folgende Tiere:

- 1) das Füllen (17,5 ccm, beiderseitig subkutan),
- 2) 1 Hundewelp von 5—6 Monaten (5 ccm),
- 3) 2 Kaninchen (je 5 ccm),
- 4) 2 Meerschweinchen (je 2 ccm),
- 5) 2 weiße Mäuse (je 1 ccm),
- 6) 1 Zieselmaus (3 ccm),
- 7) 2 Tauben (je 1 ccm in die Brustmuskulatur),
- 8) 2 erwachsene Igel (je 2 ccm).

Das Blut des Füllens wurde einen Monat lang täglich untersucht; Piroplasmen waren aber nicht zu finden, auch blieb die Temperatur des Tieres normal.

Ein ebensolches negatives Resultat gaben der Hund, die Meerschweinchen, die weißen Mäuse, die Tauben, die Zieselmaus und eines der Kaninchen. Das Blut des anderen Kaninchens bot Anzeichen starker Anämie (Polychromatophilie, Poikilocytose, Oligocytämie), und das Tier magerte bedeutend ab. Leider konnte ich, meiner Abreise wegen, die Untersuchungen an ihm nicht weiterführen.

Im Blute der Igel waren bei der Untersuchung 8 Tage nach der Infektion spärliche Piroplasmen vorhanden. Das weitere Schicksal dieser Igel ist folgendes: Der eine von ihnen ging aus einer interkurrenten Ursache zugrunde, während der andere die Krankheit überwand, sich erholte und bis auf den heutigen Tag am Leben ist.

Auf diese Weise ist aus den Versuchen zu ersehen, daß das von mir gefundene Igelpiroplasma eine selbständige Stellung einnimmt. Es gehört zu der Gruppe der sogenannten kleinen Piroplasmen. Ich proponiere, es **Piroplasma ninense** zu benennen nach meiner beständigen Gehilfin und Mitarbeiterin, Frau Nina Kohl-Yakimoff.

Literatur.

- 1) Bettencourt, A., França C., et Borges, J., Un cas de piroplasmose chez le Daim. (Arch. de Bacteriol. Camara Pestana. T. 1. 1907. f. 2.)
- 2) Denier, Sur un Piroplasma du Cervus Aristotelis de l'Anam. (Ann. Inst. Pasteur. T. 21. 1907.)
- 3) Theiler, A., Inoculation against equine piroplasmosis. (Transvaal Depart. of Agric. Report of the Gov. vet. bact. 1905—1906. Pretoria 1907 [zit. nach Bull. Inst. Past. 1907].)



1.



2.



3.



4.



5.



6.



7.



8.



9.



10.



11.



12.



13.



14.



15.



16.



17.



18.



19.



20.



21.



22.



23.



24.

- 4) Ross, P., Report on experiments to ascertain the ability of tsetse flies (Sleeping Sickness Comm. of the R. Soc. Report No. VIII. 1907 [zit. nach Bull. Inst. Past. 1907].)
- 5) — A note on the natural occurrence of piroplasmosis in the monkey. (Journ. of Hyg. Vol. 5. 1905 [zit. nach Bull. Inst. Past. 1905].)
- 6) Lingard, A. and Jennings, E., A preliminary note on a piroplasmosis found in man and in some of the lower animals. (Ind. medic. Gaz. Mai 1904 [zit. nach Bull. Inst. Past. 1904].)
- 7) Nicolle, C., Sur une piroplasmose nouvelle d'un Rongeur. (C. R. Soc. Biologie. T. 63. 27. juillet 1907.)
- 8) França, C., Sur une piroplasmose nouvelle chez une mangouste. (Bull. de la Soc. de Pathologie exotique. T. 1. 1908.)

Erklärung der Zeichnungen.

- 1, 2, 3 und 4 große ringförmige Parasiten.
 - 5, 6, 7 und 8 kleine ringförmige Parasiten.
 - 9, 10, 11 und 12 verschiedene Teilungsphasen der Parasiten.
 - 14, 15 und 16 zigarrenförmige Parasiten.
 - 13, 17, 18 und 19 Parasiten, deren Gestalt an die Birnform erinnert.
 - 20 und 21 freie Parasiten.
 - 22, 23 und 24 Parasiten in Normoblasten (auf Fig. 24 befindet sich der Parasit im Kern.)
- Alle Zeichnungen ausgeführt mit Hilfe von Mikroskop Leitz, Immersion 1:12, Apert. 1,30, Komp.-Okul. 18.

Nachdruck verboten.

Samenbläschen als Virusträger.

[Aus dem Reichsseruminstitut in Rotterdam (Direktor: Dr. J. Poels).]

Von **Rudolf Hendrik Johan Gallandat Huet**,
Ober Leutnant Veterinair 4 Huzaren-Regt.

I. Einleitung.

Mit seinem, auf der 49. Jahresversammlung der Gesellschaft zur Förderung der Tierarzneikunde in den Niederlanden am 19. Sept. 1908 in Utrecht gehaltenen Vortrag, betitelt *Smetstofdragers* (Virusträger), wollte Dr. J. Poels (1), Direktor des Reichsseruminstituts zu Rotterdam, die Aufmerksamkeit seiner Zuhörer auf die große Bedeutung dieser sogenannten Virusträger in der Tierarzneiwissenschaft lenken.

Unter Virusträgern versteht man Menschen oder Tiere, welche nach Genesung von einer ansteckenden Krankheit den Infektionsstoff noch kürzere oder längere Zeit in sich beherbergen, oder die, auch ohne wahrnehmbare Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, den Infektionsstoff zeitweilig in sich aufnehmen und auch auf ihre Umgebung übertragen.

Am Reichsseruminstitut hatte man im Laufe des Jahres 1908 begonnen, nach dieser Richtung hin Versuche anzustellen.

So wurden durch Kollegen K. Van der Veen (2) daselbst einige Untersuchungen über das Vorkommen von Virusträgern bei Tieren, welche von Rotlauf geheilt waren, angestellt. Er hat speziell die Gallenblase als Ausgangspunkt seiner Untersuchungen genommen.

Infolge eines frappanten Beispiels eines Virusträgers, nämlich des am Reichsseruminstitut stationierten Deckhengstes *Demi-monde*, welcher, obwohl selbst kerngesund, doch ziemlich regelmäßig die durch ihn gedeckten Stuten mit *Pferdestaupe* infizierte und dadurch für die Zucht

vollständig ungeeignet wurde, habe ich auf den Rat des Herrn Dr. J. Poels und unter seiner Leitung mich mit dem Studium der Frage beschäftigt, ob männliche Geschlechtsorgane von gesunden Tieren unter gewissen Verhältnissen wirklich bezüglich der Uebertragung ansteckender Krankheiten eine Gefahr sein können.

Zu diesem Zwecke habe ich männliche Geschlechtsorgane verschiedener Tiere, teils von normalen Tieren, d. h. Tieren, von deren Vorgeschichte vor dem Schlachten nichts bekannt war, teils von Tieren (Versuchstieren), welche mit verschiedenen Arten Virus in näher zu beschreibender Weise vorbehandelt waren, bakteriologisch untersucht.

Einzelne Fälle ausgenommen, worin auch die Prostata und der Uterus masculinus einer Untersuchung unterworfen wurden, habe ich meine Aufmerksamkeit hauptsächlich den Samenblasen zugewandt.

Diese Organe sind überdies bei Pferd und Cavia ein sehr geeignetes Material für eine bakteriologische Untersuchung.

Eine Untersuchung aller akzessorischen Geschlechtsdrüsen würde selbstverständlich für meine beschränkte Zeit eine zu umfangreiche Arbeit sein.

Literatur.

In der menschlichen Heilkunde sind viele Fälle von infektiösen Erkrankungen der Samenblasen beschrieben.

So bringen z. B. Teutschländer (3), Legnen (4), Noel-Hallé und Boleslav Motz (5), Saxtorph (6), Simmonds (7), Baudet und Kendirdjy (8), Weiss (9) Beschreibungen von Tuberkulose der Samenblasen, sowohl ausschließlich lokal vorkommend, als auch in Verbindung mit urogenitalen oder allgemeinen Anfällen dieser Krankheit. Fuller (10), Chute (11), Lewis (12), Lurje (13), Cohn (14), Mayer (15), Weiss (9), Van Duhot (16) melden Erkrankungen der Samenblasen gonorrhöischer undluetischer Art.

Hierunter kommen Fälle vor, bei welchen die Samenblasen die Schlupfwinkel für das Virus gewesen sind, in welchen es sich jahrelang aufgehalten hat, um später wieder erneute Infektion zu verursachen.

Bei Infektionskrankheiten, welche speziell die Geschlechtsorgane zum Sitz haben, sollten also, nach augenscheinlicher Heilung, die Samenblasen durch Ausguß von virushaltendem Sekret bei der Infizierung eine Rolle spielen können.

Die Influenza beim Pferde ist eine Infektionskrankheit, welche zwar nicht den Genitalapparat zum Sitz hat, welche aber verschiedenen Autoren zufolge doch auf genitalem Wege, auch nach scheinbar vollständiger Heilung, übertragen werden kann.

So hat Jensen (17) Mitteilungen gemacht von Hengsten, welche, nachdem sie von Influenza geheilt waren, diese Krankheit noch nach Jahren bei der Deckung übertragen haben.

James Clark (18) teilt mit, daß in seiner Nachbarschaft ein Clydesdaler als Deckhengst stationiert wurde, von dem bekannt war, daß er im Jahre vorher Pferdestaupe gehabt hatte. Vom 11.—27. August deckte dieser Hengst 21 Stuten, und 6—9 Tage nachher litten 14 derselben an Pferdestaupe. Clark nimmt an, daß auch die übrigen 7 infiziert worden sind, fest steht das jedoch nicht. Die Krankheit verlief typisch und breitete sich in der ganzen Gegend aus. In den letzten 30 Jahren war die Pferdestaupe in dieser Gegend nur einmal, ungefähr 8—9 Jahre vorher, bei zwei eingeführten Pferden, auf welche sie beschränkt blieb, vorgekommen. Die Inkubationszeit betrug 6—9 Tage. Die von diesem

Hengst gedeckten Stuten infizierten nach ihrer Rückkehr im eigenen Stalle andere Pferde. Ein Teil der gedeckten Stuten wurde trächtig. Gleichzeitig berichtet Clark, daß ein anderer Tierarzt, Potter, verschiedene Jahre früher, und zwar wiederholt, auf diese Verhältnisse aufmerksam gemacht habe, ohne jedoch Glauben zu finden. Die Symptome, welche Clark angibt, sind so charakteristisch für Pferdestaupe, daß jeder Zweifel ausgeschlossen ist.

Während des Auftretens der Pferdestaupe in Dänemark in den Jahren 1890—1892 wurde von verschiedenen Tierärzten die Beobachtung gemacht, daß Hengste, die 1—2 Jahre vorher an Influenza erkrankt gewesen waren, noch imstande waren, diese Krankheit bei der Deckung auf die Stuten zu übertragen. Jensen sammelte Mitteilungen dänischer Kollegen, welche größtenteils mit Clarks Mitteilungen übereinstimmten.

Die Inkubationszeit betrug 4—7 Tage. Jensen vermutet, daß der Infektionsstoff auf der Schleimhaut der Geschlechtsorgane bei Hengsten vegetiert und sich dort keimfähig zu erhalten vermag.

Aus den Mitteilungen der dänischen Tierärzte ging hervor, daß die Pferdestaupe am heftigsten bei Stuten auftrat, wenn die Infektion kurz nach der scheinbaren Heilung des Hengstes stattfand, und in der Regel nur in geringem Maße, wenn die Krankheit des Hengstes ungefähr 2 Jahre zurückdatierte. Kurze Zeit nach der Krankheit des Hengstes werden sehr wenige der durch diesen gedeckten Stuten trächtig, mit der Zeit kehrte aber allmählich seine Leistungsfähigkeit zurück, und es nahm die Anzahl gedeckter Stuten, welche trächtig wurden, mehr und mehr zu.

Jensen schließt: „Hoffentlich wird in Zukunft dieser hochinteressanten Tatsache größere Aufmerksamkeit geschenkt werden, so daß uns genauere Beobachtungen in den Stand setzen, das Rätselhafte derselben besser aufklären zu können, als dies bis jetzt möglich ist.“

Reeks (19) macht auch von der Uebertragung der Influenza durch scheinbar gesunde Deckhengste auf Stuten Mitteilung. Im Jahre 1901 hatte ein Hengst Influenza gehabt und die Stute infiziert. Reeks machte den Eigentümer darauf aufmerksam, daß der Hengst dieses im folgenden Jahre wiederum zu tun imstande wäre. Man beabsichtigte, den Hengst eine Rundreise antreten lassen, nachdem er zuerst die Stuten des eigenen Stalles gedeckt haben würde. So geschah es, und nachdem 14 Stuten gedeckt waren, welche gesund geblieben waren, wurde mit dem Hengst die Rundreise angetreten. Trotz des Gesundbleibens dieser Stuten verursachte der Hengst im Jahre 1902 zahlreiche neue Influenza-infektionen.

Das Resultat seiner Untersuchungen war:

- 1) Ein Hengst kann bei der Deckung Influenza auf Stuten übertragen.
- 2) Der Hengst kann hierbei in jeder Hinsicht gesund scheinen.
- 3) Der Hengst infizierte in demselben Stalle mit Wallachen und Stuten diese nicht.
- 4) Der Hengst kann nach zwei und mehr Jahren bei der Deckung noch infizieren.
- 5) Gedeckte Stuten infizieren nach Entwicklung der Krankheit auf gewöhnliche Weise Wallachen und Stuten desselben Stalles.
- 6) Durch strenge Absonderungsmaßregeln kann mit Erfolg auf den Verlauf der Krankheit Einfluß ausgeübt werden.
- 7) Die Inkubationsperiode beträgt 6—11 Tage.

8) In besonderen Fällen kann ein infiziertes Tier mit anderen zusammengehalten werden, ohne daß sich die Krankheit ausbreitet.

9) Für junge Fohlen und Mutterstuten ist die Krankheit außerordentlich gefährlich, häufig tödlich.

Reeks stellt folgende Fragen auf:

a) Ist eine durch Deckung infizierte Stute imstande, im folgenden Jahre Influenza auf einen anderen Hengst zu übertragen?

Er beantwortet diese Frage bejahend.

b) Wird eine durch Deckung infizierte Stute bestimmt ohne Gefahr fohlen?

Reeks beobachtete folgendes: Eine 4-jährige Stute, die durch Deckung infiziert war, zeigte während der Trächtigkeitsperiode keine Krankheitssymptome. 2 Tage nach normalem Fohlen zeigte sie aber typische Influenza. Sie wurde jedoch schnell geheilt. Reeks zieht daraus die Schlußfolgerung, daß das Influenzavirus während langer und unbestimmter Zeit im Körper lebensfähig bleiben kann, und zwar in Formen, die fähig sind, andere Tiere bei der Deckung zu infizieren.

Grimme (20) konstatierte, daß von 22 Stuten, welche der belgische Hengst Boubart, dem Landgestüt Dillenburg gehörig, vom 3. März bis 4. April 1902 deckte, 14 6—8 Tage später Influenza bekamen. Bei 3 dauerte die Inkubationszeit 5, 9 und 10 Tage. Vom 10.—22. Mai deckte er 7 Stuten, von welchen 5 6—8 Tage darauf Influenza bekamen. Von den 28 gedeckten Stuten waren 10 trächtig geworden. Grimme konstatierte, daß der Hengst mindestens 14 Wochen nach der Durchseuchung imstande war, Stuten beim Decken zu infizieren.

Dr. J. Poels (1) beschreibt den bereits oben gemeldeten Fall neueren Datums in folgender Weise: Der Hengst Demi-monde ist vor ungefähr 2 Jahren aus Frankreich importiert worden und stammt aus der Anglo-Normannischen Rasse. Bald nachdem Demi-monde auf seiner Station in Gelderland zum Decken zugelassen war, zeigte es sich, daß viele der gedeckten Stuten einige Tage nach der Deckung krank wurden. Die Erscheinungen, welche diese Pferde äußerten, waren Fieber, verringerte Freßlust, Schwellung der Augenlider und der Subcutis der Beine. Die Kommission, welcher das Tier gehörte, wurde veranlaßt, den Hengst außer Dienst zu stellen.

Als das Tier im Frühjahr wieder zum Decken gebraucht wurde, zeigte sich dieselbe Erscheinung. Auch jetzt wurden wieder viele Stuten unter denselben Symptomen krank. Demi-monde wurde deshalb zum zweiten Male außer Dienst gestellt und dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam zugesandt, wo eine nähere Untersuchung dieses höchst interessanten Falles im Gange ist und worüber ein ausführlicher Bericht herausgegeben werden soll. Es ließ sich unter anderem feststellen, daß intravenöse Injektionen von Sperma von diesem Hengst bei gesunden Pferden nach einer bestimmten Inkubationsperiode Pferdestaupe hervorriefen, was jedoch mit Harninjektionen nicht der Fall war. Unter gewöhnlichen Verhältnissen übertrug dieser Hengst die Krankheit nicht auf andere Pferde, da er unter gesunden Pferden stehen konnte, ohne diese Tiere zu infizieren.

Erst wenn er zu decken beginnt, verbreitet sich der Infektionsstoff, woraus man schließen muß, daß dieser nicht aus den Nieren, sondern aus dem Genitalapparat stammt. Bei der Beantwortung der Frage, wo der Sitz dieser Infektionsstoffe in den Geschlechtsorganen sein könne, kommt es Poels nicht wahrscheinlich vor, daß er in den stark funk-

tionierenden Testikeln so lange lebensfähig bleiben könne. Beherbergt doch der Mann, der chronischer Gonokokkenträger ist, diese Mikroorganismen nicht in den normal funktionierenden Testikeln. Nach ihm ist eine geringe physiologische Funktion höchstwahrscheinlich ein wichtiger Faktor, welcher den permanenten Aufenthalt eines Infektionsstoffes an einer bestimmten Stelle möglich macht; hierfür würden dann beim Hengst die Samenblasen (vielleicht in einigen Fällen auch der Uterus masculinus) in Betracht kommen. Einige Analogie dieses Organs mit den Gallenblasen von Typhusträgern läßt sich jedoch nicht leugnen.

In dem oben angeführten Artikel erwähnt der Verfasser noch unter den vielen Beispielen von Virusträgern konstatierte Fälle von Uebertragung durch eingeführte, augenscheinlich gesunde männliche Zucht-tiere von Vaginitis, Abortus, Maul- und Klauenseuche, Schweineseuche, wobei in vielen Fällen angenommen oder wenigstens vorausgesetzt werden konnte, daß die Uebertragung auf genitalem Wege geschehe.

II. Anatomie und Histologie.

Die Glandulae vesiculares der Säugetiere sind bei den verschiedenen Tierarten bezüglich des Baues, der Größe und Gestalt sehr verschieden. So findet man beim Menschen, bei den Einhufern und den Nagetieren richtige röhrenförmige Organe; bei den Wiederkäuern und den Schweinen sind es kompakte, drüsenförmige Organe, die besonders beim Schwein eine außerordentliche Größe erreichen können. Bei den Carnivoren fehlen sie gänzlich, oder sind sehr rudimentär entwickelt.

Arthur Hendrick (21) hat über die Samenblasen der verschiedenen Tiere ausführliche Studien gemacht. Bei meinen Beschreibungen habe ich hauptsächlich aus seinen Arbeiten geschöpft.

Das Pferd.

Die Samenblasen des Pferdes sind birnförmige Blasen, welche, in der Plica urogenitalis eingeschlossen, lateral neben den Ampullen der Samenleiter, seitlich auf der Blase und ventral vom Rectum gelegen sind. Mit ihren dünneren Enden konvergieren sie kaudalwärts und münden mit den Samenleitern in den Colliculus seminalis in der Urethra. Auf dem Halse der Harnblase werden sie durch das Mittelstück der Prostata bedeckt. An der Samenblase unterscheidet man einen Fundus, ein Corpus und ein Collum. Dieses letztere geht über in den relativ weiten Ausführungsgang (Ductus excretorius). Dieser Ductus excretorius durchbohrt mit einer weiten Mündung ± 3 cm kaudal von der Prostata die dorsale Wand der Urethra und bildet gemeinschaftlich mit der Mündung des Samenleiters den 2—3 cm kurzen Ductus ejaculatorius. Bei ca. 15 Proz. der Pferde münden beide Gänge getrennt in die Urethra. Die Länge der Samenblase beträgt bei ausgewachsenen Hengsten 12—25 cm und die Breite am Fundus 4 cm. Bei Wallachen ist die Länge in der Regel geringer und die Wand bedeutend dicker.

Der feinere Bau. Die relativ dicke Wand besteht aus drei makroskopisch festzustellenden Schichten, nämlich einer äußeren Bindegewebsschicht, der Adventitia, einer mehrschichtigen Muscularis und einer relativ dicken drüsenhaltigen Mucosa. Die Muscularis ist ziemlich leicht in eine longitudinal- und eine zirkulär verlaufende Schicht zu trennen, von welchen die zirkuläre am nächsten bei der Mucosa liegt und mit ihr durch eine dünne Lage submukösen Bindegewebes verbunden ist. Die Schleimhaut erhebt sich, besonders im Fundus, zu longitudinal- oder querverlaufenden Falten, welche auch netzförmig miteinander verbunden sein können. Bei Wallachen ist von diesen Falten häufig wenig mehr zu sehen. Zwischen diesem Netzwerk von Falten erheben sich feinere und niedrigere Fältchen; zwischen letzteren kann man hier und da mit einer Lupe feine Oeffnungen wahrnehmen, welche die Ausgänge von röhren- oder blasenförmigen Drüsen bilden. Da das Epithelium dieser Drüsen von dem der Schleimhaut sich nicht unterscheidet, werden diese drüsenartigen Einbuchtungen von vielen nicht als Drüsen betrachtet, sondern als eine Fortsetzung des Faltensystems der Mucosa aufgefaßt. Durch eine Serie von Schnitten hat man jedoch nachgewiesen, daß der Bau derselben wirklich tubulös oder acinös ist.

Nach Eichbaum (22) und Hendrick (21) müssen diese Organe als Zwischenformen zwischen tubulösen und acinösen Drüsen angesehen werden, da der Tubus stark gewunden und geknickt verläuft und mit zahlreichen blasenförmigen Erweiterungen und Ausbuchtungen versehen ist. Wir können also bei den Samenblasen des Pferdes von einer Drüsenschicht sprechen. Nach Eichbaum besteht eine konzentrische Anordnung des Bindegewebes um jede Drüsenröhre. Hendrick stimmt hierin nicht mit Eichbaum überein, nach diesem Autor besteht nur eine Basalmembran aus Bindegewebe ohne regelmäßige Struktur.

Das Drüsenepithel, das die zentrale Höhlung bekleidet, besteht aus einer einzigen Schicht von Zylinderzellen von mäßiger Höhe. Die Drüsenröhren sind häufig mit geronnenem Sekret gefüllt, das mit Eosin zu einer gleichmäßigen roten Masse gefärbt wird. Es kommen auch Sekretmassen vor, die zu Klumpen zusammengeballt sind und die sich auch mit Eosin rot färben. Eichbaum hat hierbei eine konzentrisch angeordnete Struktur beobachten können und sie als Corpora amylacea gedeutet.

Das Rind.

Beim Stier sind die Samenblasen verhältnismäßig groß. Es sind kompakte, drüsenartige Organe; der drüsenartige Charakter ist bereits makroskopisch deutlich zu sehen. Sie fühlen sich hart und fest an. Die Oberfläche ist mit Beulen besetzt, die auf Drüsenpakete hinweisen. Sie haben die Form von zwei länglichen, traubenförmigen Körpern von blaßroter Farbe und sind am Halse der Blase gelegen, am Uebergangsteil der Harnblase in die Harnröhren, und zwar seitwärts von den Ampullen der Samenleiter. Am kaudalen Ende, in der Nähe des kranialen Randes des Prostatakörpers, biegen sich die Samenblasen, gerade wie beim Menschen, medial um und bilden dort eine Knickung, so daß sie wieder eine kurze Strecke zurücklaufen. Sie sind nicht miteinander verwachsen, aber wohl häufig an der Basis durch loses Bindegewebe verbunden, ungefähr 15 cm lang, 5 cm breit und 3 cm dick. Beim Ochsen sind die Samenblasen viel kleiner als beim Stier; sie liegen als Stränge von 6 cm Länge, 1,5 cm Breite und 1 cm Dicke seitwärts neben den Ampullen; die traubenförmige Gestalt ist so gut wie verloren gegangen. Sie sind im Gefühl fester und haben beim Durchschneiden auch nicht mehr den schwammigen, kavernenösen Charakter, sondern den einer gleichmäßigen, festen und harten Masse.

Der feinere Bau. Die Lappen oder Drüsenpakete werden umgeben von einer dicken, aus zwei Schichten bestehenden Kapsel (Capsula epiglandularis und periglandularis externa). Die äußere Schicht der Kapsel besteht aus einer ziemlich dicken, aus losem Bindegewebe gebildeten und durch einige Muskelfasern und elastische Elemente durchkreuzten Membrana fibrosa. Sie enthält reichlich Blutgefäße und Nerven und einige Ganglien. Darauf folgt eine Muskelschicht von 3,5—4 mm Dicke, welche aus glatten Muskelfasern und Bündeln derselben besteht, die vollständig ungeordnet verlaufen und durch Bindegewebe geschieden werden. Gegen diese innere, kontraktile Schicht der Drüsenkapsel liegt direkt die Drüsensubstanz an. Durch von der Drüsenkapsel ausgehende, starke, muskelförmige Trabekel wird die Drüsensubstanz in große Lappen geteilt, die sich von außen als schwach nach vorne gehende Felder kennzeichnen. Die Trabekel bilden das interlobuläre Gewebe in der Gestalt von dicken, interlobulären Zwischenwänden. Von diesen dicken Zwischenwänden gehen wieder feinere aus, auch aus muskulösem Bindegewebe bestehend, und diese scheiden die großen Lappen in kleinere. Diese Verteilung geht durch, so daß endlich die Drüsenhöhlungen umschlossen werden. Selbst die feinsten Trabekel sind noch verhältnismäßig groß; sie bestehen aus Bindegewebe, das reich an Kernen und mit glatten Muskelfasern und elastischem Gewebe vermischt ist. Die Drüsenhöhlungen zeigen das mikroskopische Bild von Tubulis mit alveolären Ausbuchtungen. Eichbaum und Disselhorst (23) betrachten das Organ als eine rein alveoläre Drüse. Hendrick fand in seinen mikroskopischen Präparaten häufig langgestreckte, gebogene und knieförmige Röhrchen. Meistens findet man runde Durchschnitte und hauptsächlich auch Räume mit alveolären Ausbuchtungen und Falten. Das Epithel, das diese Höhlungen bekleidet, besteht aus hohen Zylinderzellen mit einem blasenförmigen Kern in halber Höhe und aus glasartig und hell aussehenden, basalen Kugelzellen. Es gelang Hendrick nicht, zwischen den Epithelzellen Sekretkapillaren nachzuweisen. Mit der Eisenalaunhämatoxylinmethode konnte er das Schließnetz, daß ist das durch Leim gebildete Netz, deutlich nachweisen. Dieses hält nämlich die Zellen zusammen und wird an keiner einzigen Stelle unterbrochen, was wohl der Fall sein müßte, wenn Sekretkapillaren vorkämen. Das Epithel besitzt keine kutikuläre strukturlose Basalmembran, die Zellen sitzen direkt auf einer Bindegewebslamelle. Unmittelbar unter dem Epithel fehlen in der Regel die Muskelfasern, doch treten an ihrer Stelle elastische Fasern auf. Wohl findet man weiter im perialveolären und perilobulären Gewebe auch Muskelgewebe. Die Samenblasen haben keine Ausführgänge, wie man solche bei anderen Drüsen wie Speicheldrüsen, Pankreas,

Nieren etc. findet. Sie stimmen hierin überein mit den anderen akzessorischen Geschlechtsdrüsen, doch unterscheiden sie sich hiervon wiederum durch den Hauptausführungsgang. Man erhält wirklich den Eindruck, als ob die ganze Drüse ursprünglich eine Blase war, deren Wand in großem Maße von Muskelgewebe durchwachsen wurde. Die Höhlung der Blase ist als solche nicht bestehen geblieben. Die Wand der Blase ist durch das Entstehen von Drüsen immer größer geworden und hat den Raum der Blase beständig kleiner gemacht. Die Drüsen sind jedoch durch Einstülpung der innersten Lage der Blasenwand, speziell des Blasenepithels, entstanden und münden gemeinschaftlich und direkt in den Hauptgang ein. Auf diese Weise ist es erklärlich, daß ein Hauptgang durch die Drüse verläuft und daß keine Sekretröhren, Sekretgänge noch Verbindungsstücke darin vorkommen. Der Zustand ist kompliziert geworden, weil die Drüsenmasse bei weiterer Entwicklung in Lobi zerfallen ist. Jede von der Blasenoberfläche ausgehende Epitheleinstülpung wird durch Teilung und Alveolarbildung in einen größeren oder kleineren Lobus umgewandelt. In der Mitte desselben befindet sich ein Raum, in welchem das Sekret sich ansammelt, und dieser Raum ist bekleidet mit demselben sekretbildenden Epithel wie die eigentlichen Enden der Drüsen. In der Regel münden diese Höhlungen aus in den Hauptausführungsgang, auch fließen sie wohl zusammen zu Höhlen von größeren Lobi. Der Hauptausführungsgang geht über in den Ductus excretorius, der an den Colliculus seminalis in der Harnröhre ausmündet. Dieser Colliculus seminalis, in welchen die Samenleiter und die Ausführungsgänge der Samenblasen getrennt ausmünden, besteht aus Bindegewebe, glatten Muskelfasern und elastischen Geweben. Zu beiden Seiten der Ausmündung der Samenleiter liegen kleine Drüsen, welche denselben Bau wie die Prostata haben. Das Epithel dieser Drüsen ist zylinderförmig, teilweise ein- und mehrschichtig und von abwechselnder Höhe. Ueberdies findet man zu beiden Seiten der Ausmündungen der Samenleiter zahlreiche Adern, so daß man hier von einem kavernösen Gewebe sprechen kann, gerade wie Henle es für den Ductus ejaculatorius des Menschen beschreibt. Das Epithel des Ausführungsganges der Samenblasen ist aus mehrlagigen, kubischen oder platten Zellen (Uebergangsepithel) aufgebaut. In den prostataartigen Drüsen des Colliculus seminalis kommen keine Corpora amylacea vor.

Das Schwein.

Bei einem ausgewachsenen Eber erscheinen die Samenblasen wie zwei große, rötliche, 12—15 cm lange, 6—8 cm breite und 3—5 cm dicke, harte, drüsenartige Organe von kegelförmiger Gestalt und lappigem Bau, deren Basis gegen die Harnblase, die Spitze gegen die Bulbourethraldrüsen gelegen ist. Beide Drüsen liegen mit ihrem medialen Rand ganz dicht aneinander und sind durch Bindegewebe zu einem Organ vereinigt. Diese Masse liegt mit ihrer breiten Basis auf dem Collum der Harnblase und auf und neben dem Anfangsstück der Urethra. Sie bedeckt die Prostata, die Enden der beiden Ductus deferentes und die beiden Ureteren und fast ein Drittel des Beckenteils der Urethra. Jede Drüse ist zusammengesetzt aus vielen Lobi und Lobuli, da jeder Lobus wieder in kleinere Läppchen zerfällt. Diese münden jeder in einen verhältnismäßig breiten Gang, welcher eine dünne Wand hat; alle diese Gänge verbinden sich wieder zu einem gemeinschaftlichen Gange, welcher nicht viel breiter ist als der erste, jedoch dickere Wände hat. Jeder Lobus hat also nur einen Ausführungsgang. Die Ausführungsgänge der Lobi vereinigen sich zu einem einzigen Hauptausführungsgang, der in den verhältnismäßig sehr kleinen Colliculus seminalis ausmündet, unmittelbar neben der Ausmündungsstelle des Ductus deferens derselben Seite. Häufig bildet jeder Glandulus vesicularis an der Unterseite einen kleinen Lappen, der sich nach jenem der anderen Seite begibt und häufig unter denselben schiebt. Durch Bindegewebe werden sie innig verbunden. Dieser Lappen wird wohl der Lobus medius genannt. Nach Frank und Martins (24) und auch nach Ellenberger und Baume (25) kommt häufig ein Ductus ejaculatorius vor, also eine Vereinigung des Ductus excretorius vor seiner Ausmündung in die Urethra mit dem Ductus deferens. Disselhorst und Hendrick gelang es nicht, diesen nachzuweisen.

Bei kastrierten Schweinen sind die Samenblasen klein, nur 2,5 cm lang, 2 cm breit und 0,5 cm dick, sie liegen unmittelbar auf der Prostata und dem Anfang der Urethra. Beim Herausnehmen der Geschlechtsteile aus dem Körper werden sie leicht aus ihrem Verbinde und von ihrer Stelle gerissen, und kommen dann auf die obere und seitliche Fläche der Prostata zu liegen. Hierdurch hält man sie leicht für laterale Lobi der Prostata.

Der feinere Bau. Die Beschreibungen des histologischen Baues von Eichbaum, Disselhorst und Oudemans stimmen überein, und auch Hendrick ist damit einverstanden. Das Organ als ganzes ist von einer dünnen, bindegewebartigen Hülle umgeben, in welcher glatte Muskelbündel nur sparsam vorkommen, und zwar so angeordnet, daß sie sich gegenseitig in allen Richtungen kreuzen. Hiervon gehen Binde-

gewebshalken nach dem Innern der Drüse aus, diese verteilen sich fortwährend und verbinden sich wieder untereinander, so daß es schon mit bloßem Auge deutlich wie ein mehr oder weniger grobes Balkenwerk aussieht. In den dergestalt gebildeten Räumen liegen die drüsenartigen Elemente. Das interalveoläre Gewebe, daß den außergewöhnlich großen Raum kapselförmig umgibt und als Zwischenwände zwischen den Höhlungen liegt, besteht aus verhältnismäßig kernarmen, fibrillärem Bindegewebe, in welchem glatte Muskulatur vorkommt, die sich als Faserbündel und Lamellen, oder auch wohl in der Form von einzelnen Fasern und Zellen präsentiert. Von der Bindegewebskapsel aus, die den Raum umschließt, werden unregelmäßige Scheidewände ausgesandt, die einander begegnen und auf diese Weise die Höhlen verteilen, oder aber frei in den Höhlungen endigen. Auf der Fläche dieser Scheidewände sitzt das Drüsenepithel. Dieses besteht aus einer Lage mäßig hoher Zylinderzellen, die ohne Hilfe einer kutikulären Basalmembran direkt auf dem perialveolären Gewebe sitzen. Von diesem interalveolären und interstitiellen Gewebe scheidet sich jedoch eine feinere Lage ab, die direkt den Drüsenzellen anliegt und die man als eine *Membrana propria* betrachten kann, welche aus konzentrisch angeordneten Bindegewebsfasern besteht, und zwar aus zähen Faserlamellen, wohingegen die Bindegewebskerne so dicht anliegen, daß sie darin zu liegen scheinen. Das Drüsenepithel zeigt die bekannten Eigenschaften. Im untersten Drittel des Zellkörpers befindet sich ein großer, blasenförmiger, ovaler Kern. Färbt man nach der Methode von Heidenhain und besieht man die freie Oberfläche der Zellen, so nimmt man ein mit sechseckigen Maschen versehenes Netzwerk von Leim wahr, jedoch findet man nirgends Spuren von dem Bestehen von Sekretkapillaren. Das Lumen der Höhlungen ist meistens vollgepfropft mit geronnenen Sekretmassen, die sich mit Eosin rosa und mit Pikrinsäure gelb färben. Ueberdies findet man häufig kristallartige Sedimente, die teils die Form eines Keiles, teils von rhombischen Tafeln haben und auch wohl von vollständig unregelmäßiger Gestalt sind.

Das Schaf.

Die Samenblasen des Schafes haben dieselbe Lage wie jene des Rindes. Sie liegen zu beiden Seiten des Beginns der Urethra und am Halse der Blase, seitwärts auf den Ampullen. Sie präsentieren sich als rundliche, knollige, ovale Körper mit einer holperigen Oberfläche. Die Holperigkeit der Oberfläche ist hier jedoch weniger groß als beim Rinde. Dieser makroskopische Befund weist schon darauf hin, daß die Samenblasen aus größeren und kleineren Drüsenlappen zusammengesetzt sind. Die Länge beträgt 3—4 cm, die Breite 2—3 cm und die Dicke 1—1,5 cm. Bei kastrierten Widdern sind die Maße bedeutend kleiner und bis auf ein Drittel reduziert. Die Ductus deferentes münden gleichwie beim Rinde, entweder getrennt, oder unter Bildung eines sehr kleinen, gemeinschaftlichen Ductus ejaculatorius mit dem an jeder Seite ausführenden Gange der Samenblase seitwärts in der Höhe des Colliculus seminalis in die Urethra aus.

Der feinere Bau. An Querschnitten durch die Samenblasen des Widders bemerkt man, daß die Kapsel besonders reich ist an glatten Muskelfasern und daß diese starke Scheidewände abgeben, die bis in das Innerste der Drüse verlaufen. Die Drüsenkapsel und die Scheidewände bestehen fast vollständig aus glatter Muskulatur, die nur mit einer geringen Menge kernhaltenden Bindegewebes vermischt ist. Dadurch daß die Teilungen der Scheidewände (Trabekeln) sich wieder vereinigen, wird das Parenchym geteilt in mehr oder weniger ovoide Drüsenlappen, und man erhält den Eindruck, daß die Trabekeln um jeden Lappen eine eigene Kapsel bilden. Aus diesen muskelhaltigen Kapseln (*Capsulae periglandulares internae* und *Periadenium internum*) sieht man wieder ziemlich grobe Zwischenwände in Form von breiten Balken nach dem Lumen der kleinen Lappen verlaufen (intralobuläre Gewebe), so daß diese wieder in eine Anzahl von Abteilungen geteilt werden. In der Mitte einer jeden Abteilung liegt meistens ein verhältnismäßig großer Raum, der nach allen Seiten in langgestreckte Buchten ausläuft. Rundum den großen Raum liegen also kleinere Räume von runder, ovaler, gebogener und auch unregelmäßiger Gestalt. Von jedem großen zentralen Raume gehen mehrere kurze, röhrenförmige Gewebeteile nach allen Seiten aus, sie entfernen sich kolbenförmig und zeigen auch seitwärts flache Ausweitungen. Alle diese, meist verschieden geformten Räume sind, wie das mikroskopische Bild ausweist, mit einem einlagigen Epithel bekleidet. Unter diesem Epithel findet man keine strukturlose, kutikuläre Basalmembran, sondern es liegt direkt gegen die mit Muskelgewebe ausgestattete Bindegewebe wand an. Die Zellen des Epithels sind niedrig, zylinderförmig, mit einem verhältnismäßig großen, blasenförmigen Kern, der mitten im feingekörnten Protoplasma liegt. An den Rändern, die an die Drüsenhöhle anliegen, sind die Kanten aus Leimsubstanz als dünne, aber scharfe Scheidewände zu sehen. In vielen der Räume findet man geronnenes Sekret, viel freie Zellkerne und einzelne *Corpora amylacea*.

Nagetiere.

Max Rauther (26) hat ausführliche Beschreibungen von dem Genitalapparat einiger Nagetiere und Insektenfresser und im besonderen ihrer akzessorischen Geschlechtsdrüsen gebracht. Die folgenden Beschreibungen sind (hauptsächlich) hieraus entliehen. Er hat den Namen Samenblasen, *Vesiculae seminales*, welcher bereits durch Oudemans in *Glandulae vesiculares* ungeändert war, wieder umgetauft in *Vesiculae vasorum deferentium*, und zwar aus embryologischen und topographischen Gründen.

Die Samenblasen der Nagetiere präsentieren sich als ziemlich große, sack- oder röhrenförmige Organe mit einer mit Muskeln ausgestatteten Wand. Innerhalb sind sie mit einem Drüsenepithel bekleidet, das sich in Kämme und Falten erhebt. Beim Kaninchen findet man das nicht, jedoch treten an Stelle dessen zahlreiche, sackförmige Vertiefungen, die einen drüsenartigen Charakter haben. Niemals bestehen die Samenblasen aus Paketen von gewundenen oder verzweigten Röhren. Sie entstehen durch Ausstülpung des Samenleiters, mit dem sie sich auch mehr oder weniger eng von ihrer Mündungsstelle in den *Canalis urogenitalis* bis zum sogenannten *Ductus ejaculatorius* vereinigen. Die Samenblasen und der *Ductus ejaculatorius* bleiben entweder vollständig getrennt, oder sie münden an jeder Seite jeder mit einer selbständigen Oeffnung in den *Colliculus seminalis* aus (Maus), oder sie vereinigen sich dermaßen miteinander, daß entweder nur die *Ducti ejaculatorii* einen gemeinschaftlichen, mit einer einzigen Oeffnung in den *Canalis urogenitalis* ausmündenden Raum bilden (*Cavia*), oder daß der Körper der vereinigten Samenblasen aussieht wie ein ungepaartes Organ (Kaninchen). Eine derartige Vereinigung der Samenblasen zu einem gemeinschaftlichen Körper findet man nur beim Kaninchen. Die Verschmelzung betrifft hier jedoch niemals die ganze Blase, sondern nur den unteren Teil, der obere Teil bleibt frei. Dieser Teil und auch eine mehr oder weniger vollständig übriggebliebene Scheidewand sind die Reste der ursprünglich paarigen Anlage des Organs.

Kaninchen.

Die Samenblase des Kaninchens sieht aus wie ein sackförmiges, undurchsichtiges, weißes Organ, welches zwischen Rectum und Harnblase gelegen ist. Es mündet mit einer schmalen Oeffnung auf den *Colliculus seminalis* in den *Canalis urogenitalis* aus. Das oberste Ende des Sackes ist in der Mitte mehr oder weniger tief eingeschnitten, die frühere Paarung des Organs läßt sich erkennen durch ein inwendig median gelegenes Septum, das bis nahe zu der Ausmündungsstelle der *Vasa deferentia* läuft. Diese befinden sich auf der ventralen Wand der Samenblasen, 2 ccm voneinander und 3—7 mm von der Blasenöffnung entfernt. Die Wand der Samenblase besteht aus teilweise glatten Muskelfasern, welche durcheinandergeflochten verlaufen. Auf dem unteren verdickten Teil des Organs liegen dorsal die Prostata und lateral die *Glandulae urethrales paraprostaticae*. Die Wand des ganzen Organs ist bekleidet mit zahlreichen, sackförmigen und verzweigten, röhrenförmigen Drüsen. Rauther fand, daß die Epithelbekleidung der Blase zweilagig war, nämlich eine Lage hoher, dicht aufeinandergedrängter Zellen mit ovalen Kernen, die in der Längsrichtung gestellt sind, und eine Lage kleiner Zellen mit zirkelförmigen Kernen. Unter der Stelle, wo die *Vasa deferentia* ausmünden, befinden sich zahlreiche Epithelausstülpungen, bestehend aus kurzen Röhren, und aufgebaut aus einlagigem Epithel, dessen Zellen zylinder- bis pyramidenförmig sind; sie sind eine kleine Strecke weit zu verfolgen und im engen Zusammenhang mit dem Epithel der Samenblase. Kurz unter der Ausmündungsstelle der *Vasa deferentia* nimmt die Anzahl der drüsenartigen Divertikel merkbar zu. Sie verzweigen sich und nehmen sowohl in Breite als auch in Länge zu. Das Epithel wird flacher und die Zellen färben sich dunkler. So entsteht ein allmählicher Übergang bis an den weiten, drüsenartigen Raum, welcher sich fortsetzt auf die Ampullen der Samenleiter. Die übrigen Epithelvertiefungen der Samenblasen befinden sich über der Ausmündungsstelle der *Vasa deferentia*, und zwar besonders stark in dem lateralen Teil und mehr nach oben rundum in der Wand. Sie bilden ziemlich weite, kurze, gerade, oder ein wenig gewundene Röhren, die sich auch wohl verzweigen. Sie liegen so dicht aufeinander, daß ein Querschnitt der Wand des obersten Teiles der Samenblasen aussieht, als ob er mit Löchern durchbohrt wäre. Das Epithel der Samenblasen zeigt bisweilen verzweigte Falten; diese sind jedoch nicht so zahlreich und regelmäßig wie bei den Samenblasen von Maus und *Cavia*. Das Epithel der Drüsen-säckchen ist einlagig und besteht aus ziemlich hohen Zylinderzellen mit ovalen Kernen. Im Lumen der Samenblase befindet sich ein feinkörniges bis hyalinartiges (im Organ), intensiv färbbares Sekret.

Cavia Cobaya.

Die Samenblasen bei *Cavia* sind zwei große, bis 10 cm lange, hornförmige, gewundene Röhren, die unten ziemlich weit sind, nach oben allmählich dünner werden und in eine Spitze endigen. Die Wand ist glatt, und es kommen keine seitlichen Gruben, wie bei der Maus, darin vor. Zwischen den Windungen ist die Bindegewebeumhüllung membranartig ausgespannt. Das Ganze hat große Aehnlichkeit mit den Hörnern eines *Uterus duplex*.

Die Samenblasen vereinigen sich mit ihren untersten erweiterten Enden zu einem geräumigen, gemeinschaftlichen Kanal. An der dorsalen Wand derselben bleibt eine in der Länge verlaufende, mediane Erhebung bestehen. Hier münden die *Vasa deferentia* aus, gerade auf dem Punkte, wo die beiden Samenblasen zusammenkommen. Etwas niedriger mündet jedoch mit einer längeren und schmaleren Oeffnung, auf derselben in der Länge verlaufenden Erhebung ein sackförmiges Organ aus, das nach oben in zwei lange, blind endigende Zitzen ausläuft, *Uterus masculinus*. Ein wenig tiefer als die Ausmündungsstelle dieses Organs und der *Vasa deferentia* geht der durch die Vereinigung der Samenblasen entstandene weite Kanal in die *Urethra* über. Es steht also fest, daß von der Vereinigungsstelle der Samenblasen bis an die gemeinschaftliche Ausmündungsstelle in den *Canalis urogenitalis* ein Kanal besteht, der nur zur Abfuhr der männlichen Geschlechtssekrete dient, und den man also wohl *Canalis genitalis* nennen kann.

Minot (27) bringt eine histologische Beschreibung der Wand und unterscheidet, von außen nach innen gehend:

- 1) eine dünne, lose, reichlich mit Blutgefäßen versehene Bindegewebeschicht;
- 2) eine hauptsächlich aus zirkulären Fasern bestehende, glatte Muskellage;
- 3) eine sehr dünne innerste Bindegewebe- (Basalmembran);
- 4) ein einlagiges Zylinderepithel.

Die Epithellage bildet Falten. Die Zellen sind hoch zylinderförmig und besitzen ovale Kerne. Bisweilen sind auch wohl kleinere Kerne zwischen den basalen Enden der Epithelzellen zu sehen. Die Zylinderzellen sind, besonders die des Epithels der vorausstehenden Falten, gefüllt mit einer mehr oder weniger großen Menge eines hellen Sekrets, bisweilen sind sie dadurch selbst stark aufgeschwollen. Das unveränderte Protoplasma zeigt eine grobe granuläre Struktur. In der Umgebung der Sekret haltenden Zellen sind auch solche, die kein Sekret enthalten, oder die es ausgestoßen haben und durch Druck der ersteren mit ihren Kernen zusammengepreßt sind. Während zwischen den Schleimhautfalten die Epithelzellen beinahe ausnahmslos mit Sekret angefüllt sind, findet man auf den Spitzen der Falten selbst beinahe ausschließlich leere, dunkle Zellen mit hornigem Protoplasma. Das Sekret der Samenblasen ist in frischem Zustande eine undurchsichtige, weiße, leicht gerinnende Masse. Mikroskopisch besteht es aus unregelmäßigen rundlichen Klumpen und Körnern.

Maus.

Die Samenblasen der Maus sind zwei lang ausgestreckte Röhren, deren oberste Enden sich wie die Blätter einer Palme nach außen umbiegen. Die Wand zeigt auf der äußeren Fläche zahlreiche, runde Einschnürungen. Nach Rauther vereinigen sich die *Glandulae vesiculares* und die *Vasa deferentia* zu einem kurzen, doch deutlich erkennbaren *Ductus ejaculatorius*. Was den feineren Bau der Samenblase betrifft, so gleicht sie dem den vorhergehenden, nur fehlen in der Muskellage die longitudinalen Muskelfasern vollständig und es weicht das Drüsenepithel ein wenig in der Beschaffenheit ab. Dieses besteht aus einlagig angeordneten, ziemlich hohen, zylinderförmigen Zellen; es ist umgeben von einer dünnen innersten Bindegewebe- (Basalmembran), einer zirkulären glatten Muskellage und von außen einer losen Bindegewebe- (Basalmembran). Diese Lage enthält von außen zahlreiche, mehr oder weniger große Einschnitte. Das Zylinderepithel erhebt sich in vielen Falten, die durch eine dünne Bindegewebe- (Basalmembran) gestützt werden. Bisweilen hängen diese Falten so sehr nach einer Seite über, daß man auf Querschnitten des Lumens vollständig getrennte Säckchen sieht.

Die Epithelzellen sind teilweise hoch und schmal, mit gleichmäßig feingranuliertem Protoplasma und auf dem Boden sitzenden ovalen Kernen. Man sieht auch zu beiden Seiten des Kerns, der sich inmitten eines dunklen, unveränderten Protoplasmas befindet, eine geringere oder größere Menge eines hellen Sekrets.

Dann sieht man noch dicht bei diesen Zellen schmale und zusammengedrückte; diese sind leer und von den übrigen durch die besonders dunkle Farbe des Protoplasmas zu unterscheiden.

Dieses Verhältnis ist also ebenso wie bei den *Caviae*.

Das Sekret sieht aus wie große kompakte Ballen einer feinkörnigen, gefärbten Masse. In peripheren Teil der Blase sieht es bleich aus und ist mehr faserig und flockig und die einzelnen besonderen Bestandteile sind spitz und scharf.

III. Physiologie.

In der Deutschen medizinischen Wochenschrift, Jahrgang 1896, bringt Rehfish (28) hierüber einen wichtigen Artikel, dem ich das Folgende entnehme:

Die Samenblasen sind zuerst durch Falopia im Jahre 1562 beschrieben. Seit dieser Zeit standen bezüglich der physiologischen Funktion der Samenblasen zwei Meinungen im Vordergrund.

Der ersten, durch Falopia und Regnerus de Graaf vertretenen Meinung nach sollten diese Organe ausschließlich als Reservoir für den Samen dienen, der anderen Meinung zufolge, durch Warton, van Hornes, Swammerdam und Hunter vertreten, mußte den Samenblasen eine selbständige Funktion, die Produktion eines für die Samenflüssigkeit notwendigen Bestandteiles, zuerkannt werden.

Seit der Mitte des 19. Jahrhunderts wurden die Samenblasen nach den Werken von Lampferhof, Davy, W. Krause, E. Weber u. a. betrachtet als Organe, denen beide erwähnten Funktionen zukommen.

Durch fast alle Forscher ist der Irrtum begangen worden, den Kollektivnamen „Samenblase“ sowohl für das betreffende Organ des Menschen, als auch für das der untersuchten Tiere anzuwenden, ohne daß diese Anwendung morphologisch gerechtfertigt war. Denn von „Samenblasen“ sollte nur dann gesprochen werden, wenn darin bei allen Tieren konstant Spermatozoen nachgewiesen werden könnten.

Darum haben viele Autoren, unter anderen Gurlt, Owen und Oudemans, vorgeschlagen, die Organe der Tiere, die zwar morphologisch mit denen des Menschen übereinstimmen, aber worin keine Spermatozoen gefunden werden, falsche Samenblasen zu nennen.

Jedoch scheint diese Definition wenig zuzutreffen, wenn man die große Verschiedenheit in Betracht zieht, welche die sogenannten Samenblasen in der großen Reihe der Säugetiere aufweisen.

Rehfish teilt nun die Säugetiere bezüglich der anatomischen Entwicklung der Samenblasen in vier Gruppen:

I. Diejenigen Säugetiere, bei welchen keine Samenblasen vorkommen, wozu gehören die Monotremata, Marsupialia, Cetaceen, Carnivoren.

II. Diejenigen Säugetiere, bei welchen der anatomische Bau bei Arten desselben Geschlechts bereits einen Unterschied zeigt. So kommen in der Familie der Chiroptera einige Geschlechter vor, bei welchen es nicht zu einer wahren Entwicklung der Samenblasen gekommen ist, sondern bei welchen das Vas deferens am Ende einige ampullenförmige Erweiterungen hat, in deren Wand viele Drüsen vorkommen, während bei anderen Geschlechtern eine Vereinigung von Drüsen mit einem gemeinschaftlichen Gang zum Vas deferens zustande gekommen ist.

III. Diejenigen Säugetiere, bei welchen die Samenblasen in das Vas deferens ausmünden, wozu die Sirenen, Probosciden, Perissodactylen, Artiodactylen, Primaten und auch der Mensch gehören.

IV. Diejenigen Säugetiere, bei welchen die Samenblasen nicht in das Vas deferens ausmünden, sondern, wie dies auch bei vielen Nagetieren der Fall ist, in den Sinus urogenitalis.

Mit dieser Einteilung beabsichtigt der Verfasser der systematischen Entwicklung der Samenblasen Rechnung zu tragen. Es folgen hieraus drei Entwicklungsstadien: nämlich:

- a) Drüsen in der Wand der ampullenförmigen Erweiterungen des Vas deferens.
- b) Abscheidung dieser Drüsen mit besonderem gemeinschaftlichen Ausführungsgang in des Vas deferens.
- c) Vollkommene Abscheidung der Drüsen mit Ausmündung in den Sinus urogenitalis.

Alle diese Drüsenarten stimmen also im physiologischen Sinne bei den Tieren überein, wofür auch noch die anatomische Anordnung in der Reihe der übrigen akzessorischen Drüsen plädiert, nämlich Samenblasen — Prostata — Cowpersche Drüsen, aber hiermit ist noch nicht die physiologische Identität bewiesen.

Der Verfasser hat mit Unrecht nur auf das Vorkommen von Sperma in den Samenblasen geachtet und nicht auf den Umstand, der dieses Vorkommen erklärt, nämlich die Art der Ausmündung.

Bei den Repräsentanten der Gruppe III (Ausmündung in das Vas deferens) ist die regelmäßige Anwesenheit von Spermatozoen in den Samenblasen nicht zu verwundern.

Bei den Samenblasen der Tiere aus Gruppe IV (Ausmündung in den Sinus urogenitalis, beim Igel selbst 6 mm unter der Mündung des Vas deferens) können zwar bisweilen einige Spermatozoen am Anfang des Ausführungskanals angetroffen werden, jedoch dürften sie nicht in der Samenblase vorkommen.

Wohl haben Kayser und Lampferhoff regelmäßig Spermatozoen in den Samenblasen der Kaninchen gefunden, jedoch darf dieses Organ nicht als eine Samenblase angesehen werden, sondern als ein Organ, das neueren Forschungen zufolge entstanden ist sowohl aus dem Müllerschen wie aus dem Wolfschen Gang, was Webersches Organ genannt wird. Der Verfasser hat bei Kaninchen von einer eigentlichen Samenblase niemals etwas wahrgenommen.

Außer daß die Samenblasen bei Mensch und Tier untereinander gewisse physiologische Unterschiede aufweisen, sind diesem Verfasser zufolge diese Organe auch vom Standpunkte der Entwicklungsgeschichte als von verschiedenem Ursprung zu betrachten.

Wo sie beim Menschen und bei den Tieren, bei welchen sie in die Vasa deferentia münden, aus dem Wolfschen Gang entstanden sind, ist es für die Tiere, bei welchen sie direkt in den Sinus urogenitalis münden, nicht wahrscheinlich, daß sie gleich der Prostata aus dem Anfangsstück des Sinus urogenitalis entstanden sind.

Man kann also dieser Meinung zufolge nicht von einer Physiologie der Samenblasen sprechen.

Durch mehrere Forscher ist bewiesen, daß die Drüsen in den Samenblasen einen eiweißartigen Stoff sezernieren, der einen wesentlichen Bestandteil des Sperma bildet. Es muß jedoch erforscht werden, ob die Samenblasen des Menschen wirklich ein Samenreservoir, oder besser Spermatozoenhalter sind.

Fürbringer hat bei 60 männlichen Leichen in 80 Proz. der Fälle Spermatozoen in der Samenblase gefunden. Schlemmer bei 156 Fällen in 89 Proz. (die negativen Resultate können dem Verfasser zufolge dem ziemlich häufigen Vorkommen von Azoospermie zugeschrieben werden).

Gegen diese Resultate müßte angeführt werden, daß die Spermatozoen womöglich erst post mortem in die Samenblase eingedrungen waren, doch schließen die eigenen Untersuchungen des Verfassers bei Lebenden diese Meinung aus. Er drückte bei 50 Männern von 20—40 Jahren die Samenblasen per rectum aus, und fand entweder direkt im ausgeflossenen Sekret (in drei Fällen von chronischer Gonorrhöe), oder in dem unmittelbar nach der Untersuchung abgelassenen und darauf zentrifugierten Harn deutlich Spermatozoiden.

Außer durch diese Versuche hat er noch durch das Folgende bewiesen, daß die Samenblasen beim Menschen wirklich Reservoirs sind.

Bereits durch Regnerus de Graaf wurde darauf hingewiesen, daß, wenn man in das Vas deferens Flüssigkeit einspritzt, dieser Stoff erst dann im Ductus ejaculatorius erschien, wenn die Samenblasen erst prall damit ausgefüllt waren. Diese Eigentümlichkeit ist von dem Verfasser aus seinen mit Gelatine oder Roseschm Metall aufgespritzten Präparaten anatomisch erklärt worden. Es ergab sich nämlich, daß der Uebergang des Vas deferens in die Mündung der Samenblase ein sehr weiter Raum ist gegenüber dem Uebergange des Vas deferens in den Ductus ejaculatorius, so daß alles, was aus dem Vas deferens kommt, in die Samenblase gelangen muß, da es nach der Stelle ausweicht, wo der geringste Druck herrscht.

Der Uebergang der Samenblase in den Ductus ejaculatorius hingegen ist ein sehr enger Kanal, so daß für eine Entleerung der Samenblase starke Muskelkontraktion erfordert wird. Dieses Vermögen wird in den zahlreichen glatten Muskelfasern gefunden, welche in der Fascie, die die Samenblase bedeckt, vorkommen.

Durch viele wird die Meinung ausgesprochen, daß der Geschlechtstrieb bei den Tieren durch eine starke Füllung der Samenblase geweckt werde. Obschon beim Menschen nicht verkannt werden darf, daß dadurch der Reiz zur Sinneslust leichter ausgelöst wird, so ist doch durch Exstirpation bei Fröschen und Ratten deutlich nachgewiesen, daß die Abwesenheit dieser Organe den Geschlechtstrieb nicht vermindert. Das spezifische Sekret der Samenblasen ist ein Stoff von zäher klebriger Konstitution und hellgelber Farbe, nicht in Wasser, aber in Essigsäure löslich. Bei Kälte gerinnt es gallertartig. Waldeyer vermutete, daß dieses Sekret durch längeren Kontakt mit den Spermatozoen eine größere Vitalität geben sollte, jedoch muß man nicht denken, daß die Spermatozoen in den Hoden und Nebenhoden träge und unbeweglich sind. Diesem widersprechen die Präparate aus Hoden und Nebenhoden von Tieren entschieden. Nach Fürbringer muß ein befruchtungsfähiges Sperma mindestens aus drei Komponenten zusammengestellt sein, nämlich aus dem Sekret der Hoden, der Samenblasen und der Prostata.

Bezüglich der Frage, ob eine Befruchtung auch ohne Samenblasensekret, oder ohne Prostatasekret, oder ohne diese beiden möglich ist, sind verschiedene Versuche gemacht. So exstirpierte Steinach die Samenblasen bei weißen Ratten, und ließ sie nach vollständiger Heilung der Wunden kohabitieren. Vier solcher Männchen wurden mit 14 Weibchen zusammengebracht (Ratten tragen 21 Tage und werfen 5mal per Jahr \pm 10 Junge). In 53 von den durch Steinach beobachteten Wurfperioden waren nur

8 fruchtbar. Von den 14 Weibchen waren nur 5 trächtig geworden, und zusammen 19 Junge geworfen. Die 9 nicht trächtig gewordenen Weibchen wurden darauf mit gesunden Männchen zusammengebracht und wurden sofort befruchtet. Ferner exstirpierte Steinach sowohl die Samenblasen, als auch die Prostata bei männlichen Ratten. Das Resultat war, daß von 12 Weibchen innerhalb 42 Wurferperioden nicht eins befruchtet wurde. Durch den Verfasser selbst sind ferner noch 8 Versuche gemacht mit Bezug auf künstliche Befruchtung mit reinem Hodensekret aus den Nebenhoden und mit Flüssigkeit aus den Samentaschen von Kaninchen. Die Versuche wurden auch mit der Flüssigkeit aus der Samenblase gemacht, um den Einwendungen zu begegnen, die Spermatozoen hätten kein Fluidum, indem sie sich bewegen könnten. Niemals jedoch wurde in einem der Fälle Befruchtung erzielt. Das Resultat stimmt also mit dem von Steinach überein, nämlich daß Hodensekret allein nicht im stande ist, eine Befruchtung zu erzeugen.

IV. Eigene Untersuchungen.

Diese Untersuchungen umfassen:

I. Die bakteriologische Bearbeitung von Samenblasen, stammend von Schlachttieren des Rotterdamer Schlachthofes, von welchen Tieren sich bei der Fleischschau ergeben hatte, daß sie an keiner, weder akuten, noch chronischen Krankheit gelitten hatten.

II. Die bakteriologische Bearbeitung von Samenblasen, stammend von Versuchstieren, die probeweise mit einem spezifischen Infektionsstoff behandelt worden und daran gestorben waren.

III. Die bakteriologische Bearbeitung von Samenblasen, stammend von Versuchstieren, denen probeweise eine Infektionskrankheit eingepflegt war, an der sie deutlich gelitten hatten, worauf sie nach vollkommener Genesung geschlachtet wurden.

I. Die bakteriologische Untersuchung von Samenblasen von Schlachttieren des Rotterdamer Schlachthofes, von welchen Tieren sich bei der Fleischschau ergeben hatte, daß sie an keiner akuten oder chronischen Krankheit gelitten hatten.

Durch diese Untersuchung sollte festgestellt werden, ob im Sekret oder in der Schleimhaut der Samenblasen gesunder Tiere etwa Mikroorganismen vorkämen, welche als die Ursache von Infektionskrankheiten bei den betreffenden Tieren bekannt sind, also ob z. B. in den Samenblasen von Pferden Rotzbacillen, Rotzstreptokokken oder andere für das Pferd pathogene Mikroorganismen vorkommen können.

Pferd.

Die Anzahl der untersuchten Samenblasen von Hengsten betrug 7. Mit Ausnahme eines Tieres der Oldenburger Rasse stammten alle Hengste aus England. Die Anzahl der untersuchten Samenblasen von Wallachen betrug 27. Auch hierfür wurden die meisten von englischen Minenpferden genommen.

Das Herausnehmen der Geschlechtsorgane geschah im Schlachthof stets durch Sachverständige. Darauf wurden sie direkt nach Ankunft in dem Laboratorium des Reichsseruminstituts verarbeitet. Dieses geschah folgendermaßen: Nachdem die Samenblase dicht bei der Mündung unterbunden und abgeschnitten war, wurde ein Teil der Oberfläche mit einem Brennmesser abgesengt, darauf wurde mit einem sterilen Messer eingeschnitten und der Inhalt in einem sterilen Röhrchen oder Kolben aufgefangen. Von der zurückgebliebenen Flüssigkeit wurden einige Deckglaspräparate gemacht. Gleichzeitig wurde ein Präparat eines hängenden Tropfens von der Samenblase eines Hengstes angefertigt. Hierbei ergab sich, daß in 4 von den 7 Tropfenpräparaten Spermatozoiden

vorhanden waren, von denen viele noch eine ziemlich lebhafte Bewegung zeigten.

Die Schleimhaut der entleerten Samenblase wurde nun so schnell wie möglich mit einem starken Platinspatel an mehreren Stellen tüchtig abgekratzt und das am Spatel haftende Material in einzelnen Kubikzentimetern sterilen Wassers verteilt. Auch wurden auf diese Weise wieder Deckglaspräparate angefertigt. Von diesen sowie von dem soeben aufgefangenen Inhalt wurden zunächst zahlreiche Röhrchen mit den am meisten gebräuchlichen festen und flüssigen Nährböden geimpft. Hierbei wurden besonders verwendet: Glycerinagar, Glycerinkartoffel (mit Rücksicht auf die Malleusbacillen), Serumbouillon und flüssiges und geronnenes Serum, indem das Material über die Oberfläche des ausgegossenen Nährmediums ausgestrichen wurde oder auch Platten gegossen wurden, wobei das Material vor dem Ausgießen mit dem flüssig gemachten Nährmedium vermischt wurde. Für die erste Sorte Platten habe ich gebraucht: Agar, Glycerinagar, Gelatine, Blutserum und Glycerinblutserum, für die letztere Agar, Glycerinagar und Gelatine.

Was den Inhalt der Samenblasen betrifft, so wurden sehr auseinandergehende Zahlen gefunden, von einzelnen Kubikzentimetern bis 500 ccm. Bei 2 Hengsten stellte es sich heraus, daß die Samenblasen eine verdickte Wand und den enormen Inhalt von 500 ccm einer braunen, dickschleimigen Flüssigkeit hatten, während in der Regel der Inhalt ± 100 ccm betrug und farblos und weniger dickschleimig war. Auch bei den von Wallachen stammenden Blasen wiesen 5 dieselbe braune, dicke Flüssigkeit auf, jedoch in einer nicht größeren Menge als von 60 ccm. Die Flüssigkeit erwies sich in allen diesen 7 Fällen als reich an Gallenfarbstoff und Eisen, jedoch wurde in keinem einzigen Falle hierin irgend ein Mikroorganismus gefunden.

Ich erwähne hier das Folgende aus Kitt, Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere: Der schleimige und gallertartig zähe Inhalt der Samenblasen kommt in sehr wechselnden Mengen vor, beim Pferd bis zu 200 g. Sind die Ducti ejaculatorii bei diesen Tieren verstopft, dann sammelt sich das Sekret natürlich in den Samenblasen und erweitert diese dergestalt, daß die Drüsenlappen zu großen Säcken werden. Dieser Zustand hängt gewöhnlich mit einer katarrhalen Entzündung zusammen und entsteht dadurch, und dann ist der Inhalt dick, grünlich, zäh-schleimig und die Schleimhäute des birnförmigen Sackes haben eine rauhe, faltige Oberfläche, während die Wand durch Bindegewebeneubildung verdickt ist (Vesiculitis, Dilatatio vesicae seminalis). Häufig geht der Inhalt in Verkalkung über; es entstehen kleine weiße Konkreme, bestehend aus Phosphaten, Karbonaten und reichlichen Mengen organischen Materials. Es können auch Spermafäden in denselben vorkommen und dann nennt man sie Samensteine. Eine Erweiterung oder Ausdehnung der Samenblasen kann auch dadurch zustande kommen, daß bei Prostatavergrößerung und bei Vorkommen von Steinen in der Harnröhre der Harn in die Ausführungsgänge der beiden Drüsen zurückgestaut wird, und die ausgedehnten Blasen enthalten dann eine bräunliche, dicke, Leim gleichende und nach Harn riechende Flüssigkeit (sogenannte Wassersucht der Samenblasen, Hydrocele vesicae seminalis).

Das Resultat der bakteriologischen Untersuchung war folgendes: Von den 7 Samenblasen der Hengste wiesen laut Kulturen 5 keine

Mikroorganismen auf. Bei einer wuchsen auf den Platten einzelne Kolonien von gewöhnlichen Coli-Bacillen, welche für Mäuse, intra-peritoneal geimpft, nicht pathogen waren. Bei der anderen wurde aus beiden Hälften ein Bacillus mit folgenden Eigenschaften gezüchtet: Kurze, ovale Stäbchen, unbeweglich, gramnegativ, keine Sporenbildung, keine Gasbildung in zuckerhaltigen Medien, Milch nicht gerinnend, keine Indolbildung, subkutan für Mäuse und intraperitoneal für Caviae nicht pathogen.

Von den 27 Samenblasen von Wallachen wiesen laut Kulturen ca. 20 keine Mikroorganismen auf. Einige Kulturen der übrigen 7 enthielten sparsam Kolonien von *Bacterium coli commune*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus*, die für Caviae und Kaninchen nicht pathogen waren. Ferner wurden 3 Prostata und ein Uterus masculinus untersucht, wovon eine Prostata-drüse viele für Mäuse nicht pathogene Coli-Bacillen zu enthalten schien, während die übrigen steril waren.

Stiere.

Im ganzen sind die Samenblasen von 13 ausgewachsenen Stieren und von 6 3 Monate alten Stierkälbern untersucht worden.

Die Arbeitsmethode war hier folgende: Nach dem Abbrennen der Oberfläche der Samenblasen wurde mit einem sterilen Messer eingeschnitten und von der Flüssigkeit der Schnittfläche auf und in viele verschiedene Nährmedien geimpft. Dieses wurde an verschiedenen Stellen mehr oder weniger tief von der Oberfläche wiederholt. Die Samenblasen der Stierkälber erwiesen sich alle steril. Aus denen der 13 Stiere wurden in 3 Fällen Kokken gezüchtet, und zwar Staphylo-, Strepto- und Tetrakokken, in den übrigen 10 Fällen konnten keine Mikroorganismen isoliert werden.

In Präparaten aus den Samenblasen der Stierkälber wurden keine Spermatozoiden nachgewiesen, in denen aus den 13 Samenblasen der Stiere in 4 Fällen.

Widder.

Von dieser Tierart wurden von 35 ausgewachsenen Exemplaren die Geschlechtsdrüsen untersucht. Die Arbeitsmethode war dieselbe, wie bei den Stieren. In 5 Fällen wurden Bakterien der Coli-Gruppe isoliert, nämlich 3mal *Bact. coli commune*, 1mal ein *Colibacillus*, welcher alle Eigenschaften mit dem *Bact. coli commune* gemeinsam hatte, mit Ausnahme derjenigen, Milch zu gerinnen und Indol zu bilden. 1mal ein *Paracolibacillus*, welcher Milchzucker spaltete, jedoch durch die Agglutinationsprobe mit den in dem Laboratorium des Reichsseruminstituts vorhandenen diagnostischen Seren nicht in einer bestimmten Gruppe untergebracht werden konnte. Alle 5 Bacillen waren für Mäuse nicht pathogen. Die aus den übrigen 30 Samenbläschen angelegten Kulturen waren alle steril.

Kein einziges Mal konnten Spermatozoiden nachgewiesen werden.

Eber.

Es wurden die Samenblasen von 5 Schweinen untersucht und gleich wie bei den vorhergehenden Tierarten bearbeitet. Bei einem der 5 Eber wiesen die Samenblasen Kokken auf.

In 2 von den 5 Fällen wurden Spermatozoiden nachgewiesen.

Kaninchen.

(Die Frage, ob die Samenblasen der Kaninchen eigentliche Samenblasen sind, oder nicht, vermindert den Wert derselben für meine Untersuchung nicht.)

Da die Samenbläschen beim Kaninchen für ein steriles Herausnehmen nicht bequem liegen, erfordert es vorher einige Uebung an einzelnen, für andere Zwecke gebrauchten Kadavern, um so schnell wie möglich und zudem steril an die Stelle zu gelangen und die Samenbläschen im ganzen herauszunehmen und in Bouillon zu werfen. Bevor ich sie in Bouillon tat, habe ich sie nur eben, der größeren Sicherheit wegen, durch die Flamme gezogen, und zwar so kurz, daß die Hitze nicht auf die Schleimhaut eindringen konnte. Um die Nährbouillon gut mit der Schleimhaut in Berührung zu bringen, habe ich mit einer flambierten, langen, dünnen Schere in die Samenbläschen innerhalb der Bouillonröhrchen einigemal eingeschnitten.

Auf diese Weise habe ich 3 Samenbläschen untersucht, jedoch ist kein einziges Mal in der Bouillon irgendwelches Wachstum aufgetreten.

Die Untersuchung auf Spermatozoiden wurde mit dem noch anwesenden Schleim vorgenommen, der aus dem im Becken zurückgebliebenen Stumpf ausgedrückt werden konnte. In einem Falle wurden darin Spermatozoiden gefunden.

Cavia.

Bei den Caviae, bei welchen die Samenblasen einen genügenden Umfang haben, wurden sie, nachdem sie steril bloßgelegt waren, eingeschnitten und von der offengelegten Schleimhaut auf die gewöhnliche Weise auf verschiedene Media geimpft.

Bei den 2 Caviae erwies sich der Inhalt steril, auch wurden keine Spermatozoiden gefunden.

II. Bakteriologische Bearbeitung von Samenblasen, welche von Versuchstieren stammten, die probeweise mit einem spezifischen Infektionsstoff behandelt worden sind und daran gestorben waren.

Als Versuchstiere für diese Experimente wurden Caviae und Mäuse gebraucht, weil die Samenblasen dieser Tiere im Verhältnis zum Körper groß und deshalb bequem zu bearbeiten sind, und man auf diese Weise die beste Aussicht auf ein günstiges Resultat hat. Experimentiert wurde mit Milzbrand, Rauschbrand, Rotlauf, Pleuropneumonie der Kälber und Druse.

Die Mäuse wurden gebraucht für Milzbrand, Rotlauf und Druse. Für jede Krankheit sind zwei dieser Tiere zu den Versuchen herangezogen worden. Hierzu können noch jene Versuchstiere gefügt werden, welche bei den Experimenten von Hauptstück III gestorben sind (siehe dort die Tabelle). Die Caviae wurden für Rauschbrand und Pleuropneumonie der Kälber gebraucht.

Es kam bei diesen Experimenten hauptsächlich darauf an, zu erfahren, ob bei einem, an einer Infektionskrankheit erlegenen Versuchstiere die Mikroorganismen in größerer oder geringerer Anzahl in dem Inhalte der Samenblasen vorkommen. Darum wurde bei der Impfung so sorgfältig wie möglich jede Verletzung der Schleimhaut selbst vermieden, da doch im Falle einer Lädierung der Schleimhaut dem entnommenen Material leicht ein wenig Blut beigemischt sein konnte.

Gleichzeitig wurden mikroskopische Präparate angefertigt und einige Male Schnitte von der Wand (Rotlauffälle) nach Gram gefärbt. Die Anzahl der mikroskopisch in den Präparaten von Schleim nachgewiesenen Bacillen ging sehr weit auseinander, doch waren deren stets für eine mikroskopische Diagnose mehr als genügend zugegen.

In den Kulturen wurde der Mikroorganismus stets in Reinkultur wiedergefunden.

III. Es wurden ferner Samenblasen von Tieren bakteriologisch bearbeitet, denen eine Infektionskrankheit experimentell eingepft war und die unverkennbare Symptome dieser Krankheit gezeigt hatten und die nach vollkommener Genesung getötet worden waren. Als Kontagien wurden gewählt: Milzbrand, Rotlauf, Pleuropneumonie der Kälber und Druse. Es war nicht immer möglich, die Infektionen zur Abheilung zu bringen, so daß viele Tiere trotz der kurativen Seruminjektionen fielen. Als Kulturen wurden in der Regel Bouillonkulturen, welche 36 Stunden bei 37° C gewachsen waren, gebraucht.

Wie auch in den Tabellen zu sehen ist, sind für Druse gebraucht:

1 Maus, welche, trotzdem sie mit Serum nachbehandelt wurde, am folgenden Tage starb.

3 Mäuse, welche, ohne Hilfe von Serum, aber nach einer Einspritzung mit einer alten Kultur, am Leben blieben, jedoch deutlich krank gewesen waren.

3 Mäuse, welche durch Serum gerettet waren, denen aber einen Monat danach wiederum eine Kultur eingespritzt wurde und die darauf gestorben sind.

Bei den 3 übriggebliebenen Tieren wurde nach 13 und 21 Tagen kein Samenblasenvirusträger angetroffen.

Für Rotlauf sind gebraucht:

4 Caviae, welche ohne Serum am Leben geblieben sind und wobei sich ergab, daß bei einem das Virus nach 10 Tagen nicht mehr in der Blutbahn und den Organen, wohl aber in den Samenbläschen zu finden war.

3 Kaninchen, wovon 2 mit Serum behandelt und am Leben geblieben sind, und das andere ohne Serumbehandlung gestorben ist.

2 Mäuse, beide mit Serum genasen.

Außer bei den obengenannten Caviae war die Untersuchung der übriggebliebenen Tiere negativ.

Für Pleuropneumonie der Kälber wurden gebraucht 22 Caviae.

Hiervon wurden 2 Caviae intraperitoneal mit Kultur geimpft und gleichzeitig subkutan mit Serum behandelt (I und II); beide starben trotz dieser Prophylaxis, die Dosis erwies sich als zu hoch.

Ferner wurden 4 Caviae intraperitoneal geimpft mit einer kleineren Dosis derselben, jedoch älteren Kultur und nicht mit Serum behandelt (3, 4, 5, 6). Von diesen vier starb eins, und es wurden nach schwerer Krankheit drei geheilt. Nachdem sie augenscheinlich vollständig wiederhergestellt waren, wurden diese 3 getötet, wobei sich ergab, daß das Virus noch bei einem (III) in der Samenblase vorhanden war, während alle Kontrollimpfungen mit den verschiedenen Organen negativ waren; bei den beiden anderen waren auch die Samenblasenkulturen negativ.

13 Caviae wurden subkutan mit ziemlich großen Dosen, jedoch von einer Kultur, die sich weniger virulent als die vorige erwies, ge-

Tabellen zu Hauptstück III.

Tierart	No.	Datum der Ein- spritzung	Art der Injektion	Dosis Kultur	Dosis Serum	gestorben	getötet	Bakteriol. Befund	Org.	Sbl.
Druse.										
Maus	I	11. Dez.	subkutan	0,1 ccm	—	—	—	—	—	—
	II	12. "	"	0,25 "	0,5 ccm	12. Dez.	—	+	+	—
"	III	17. "	"	0,5 "	—	—	30. Dez.	—	—	—
"	IV	17. "	"	0,5 "	—	—	6. Jan.	—	—	—
"	V	17. "	"	0,5 "	0,5 ccm	16. Jan.	6. "	—	±	+
	VI	16. Jan.	"	1,5 "	—	—	—	—	—	—
"	VII	17. Dez.	"	0,5 "	0,5 "	17. "	—	+	+	—
	VII	16. Jan.	"	1,5 "	—	17. "	—	+	+	—
Milzbrand.										
Cavia	I	17. Dez.	subkutan	0,025 ccm	3 ccm	—	30. Dez.	—	—	—
"	II	17. "	"	0,025 "	3 "	—	31. "	—	—	—
"	III	17. "	"	0,025 "	3 "	—	31. "	—	—	—
"	IV	11. Nov.	"	—	10 "	—	—	—	—	—
		12. "	"	0,05 "	—	—	23. Dez.	—	—	—
Rotlauf.										
Cavia	I	21. Nov.	intraperit.	2 ccm	—	—	11. Dez.	—	—	—
"	II	12. Jan.	subkutan	1 "	—	—	25. Jan.	—	—	—
"	III	12. "	"	1 "	—	—	25. "	—	—	—
"	IV	15. "	"	0,5 "	—	—	25. "	—	+	—
Kaninchen	I	21. Nov.	intraven.	1 "	—	—	—	—	—	—
			subkutan	—	10 ccm	—	7. Dez.	—	—	—
"	II	21. Nov.	intraven.	1 "	—	—	—	—	—	—
"	III		subkutan	—	10 "	—	19. "	—	—	—
			intraven.	1 "	—	—	—	—	—	—
Maus	I	20. Nov.	subkutan	0,1 "	1 "	—	19. Dez.	—	—	—
"	II	2. "	"	0,1 "	1 "	—	19. "	—	—	—
Pleuropneumonie der Kälber.										
Cavia	I	8. Dez.	intraperit.	0,5 ccm	—	—	—	—	—	—
	II	3. "	subkutan	—	5 ccm	10. Dez.	—	+	+	—
"	III	8. "	intraperit.	0,5 "	—	—	—	—	—	—
"	IV	8. "	subkutan	—	5 "	10. "	—	+	+	—
"	V	5. Jan.	intraperit.	0,02 "	—	—	19. Jan.	—	—	—
"	VI	5. "	"	0,02 "	—	—	19. "	—	—	—
"	VII	5. "	"	—	—	14. Jan.	19. "	±	±	—
"	VIII	5. "	subkutan	5 "	5 "	—	—	—	—	—
		6. "	"	—	5 "	—	—	—	—	—
"	IX	7. "	"	5 "	5 "	11. "	—	+	+	—
"	X	7. "	"	5 "	5 "	—	—	—	—	—
"	XI	7. "	"	5 "	5 "	17. "	—	+	+	—
"	XII	7. "	"	5 "	5 "	—	—	—	—	—
"	XIII	18. "	"	2 "	5 "	16. "	—	+	+	—
"	XIV	23. "	"	—	—	—	6. Febr.	—	—	—
"	XV	19. "	"	2 "	5 "	—	—	—	—	—
"	XVI	23. "	"	—	—	—	12. "	—	—	—
"	XVII	18. "	"	2 "	5 "	—	—	—	—	—
"	XVIII	23. "	"	—	—	—	12. "	—	—	—

Tierart	No.	Datum der Einspritzung	Art der Injektion	Dosis Kultur	Dosis Serum	gestorben	getötet	Bakteriol. Befund	
								Org.	Sbl.
Cavia	XIII	18. Jan.	subkutan	2 ccm					
		23. "			5 ccm	24. Jan.		+	+
	XIV	22. "	"	3 "	5 "	25. "		+	+
	XV	23. "	"	3 "	5 "	26. "		+	+
		25. "			5 "				
	XVI	22. "	"	3 "	5 "	29. "		+	+
		23. "			5 "				
		24. "			3 "				
		26. "			3 "				
	XVII	28. "	"	3 "	3 "	29. "		+	+
		27. "			5 "				
		28. "			3 "				
	XVIII	22. "	"	3 "	3 "	29. "		+	+
		23. "			5 "				
		25. "			3 "				
		26. "			3 "				
	XIX	22. "	"	3 "	3 "	27. "		+	+
		25. "			3 "				
		26. "			5 "				
	XX	25. "	"	0,025 "		22. Febr.		—	—
	XXI	25. "	"	0,025 "		26. "		—	—
	XXII	25. "	"	0,025 "		26. "		—	—

impft und gleichzeitig mit Serum behandelt, wovon jedoch doch noch 10 starben.

Bei einem der drei übriggebliebenen (XI), das ungefähr einen Monat nach dem Krankwerden getötet wurde, ergab sich, daß die Samenblasen noch Virus enthielten, während alle übrigen Organe ein negatives Resultat lieferten.

Drei Caviae wurden mit einer kleinen Dosis der letzteren Kultur subkutan geimpft, doch wurde kein Serum angewandt (XX, XXI, XXII). Sie sind alle nach schwerer Krankheit am Leben geblieben.

Die übrigen getöteten Tiere gaben alle ein negatives Resultat, außer den gestorbenen Individuen.

Für Milzbrand wurden 4 Caviae gebraucht, die alle subkutan mit Kultur geimpft wurden und denen gleichzeitig Serum eingespritzt wurde. Alle 4 wurden nicht bemerkenswert krank und wurden respektive eins nach 14 Tagen und 3 nach einem Monat getötet. In keinem dieser 4 Fälle konnten weder in den Organen, noch in den Samenblasen Milzbrandbacillen nachgewiesen werden.

Kurz resumierend, wurden also unter den Versuchstieren, welche nach kürzerer oder längerer Zeit von einer Infektion wiederhergestellt waren, Samenblasenvirusträger angetroffen, und zwar:

unter 8 Versuchstieren nach Infektion mit	Rotlaufbacillen	1
" 9 "	" " " " Pleuropneumoniebacillen	2
" 4 "	" " " " Milzbrandbacillen	0
" 3 "	" " " " Drusestreptokokken	0

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Dr. J. Poels, Direktor des Reichsseruminstituts zu Rotterdam, der mir das Thema dieser Arbeit überließ, und Herrn H. van Straaten, Bakteriolog, der mir stets zur Seite stand, für ihre hochgeschätzte Hilfe meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Schlußfolgerungen.

1) In den Samenblasen gesunder Tiere können Mikroorganismen vorkommen.

2) Im Sekret der Samenblasen von Tieren, welche an einer akuten Septikämie gestorben sind, kommen die spezifischen Mikroorganismen vor.

3) Durch die Praxis und durch Untersuchungen darüber im Reichsseruminstitut hat sich das Vorkommen von Infektionsstoffträgern, welche die Krankheit beim Begattungsakt übertragen, als sicher erwiesen.

4) Bei experimentell erzeugten Infektionskrankheiten bei kleinen Versuchstieren kann sich das Virus noch in den Samenblasen aufhalten, wenn es in der Blutbahn und in den parenchymatösen Organen nicht mehr nachgewiesen werden kann.

Literatur.

- 1) Poels, J., Smetstofdragers. (Tijdschr. voor Veeartsenijkunde. Deel 36. No. 2.)
- 2) Van der Veen, K., Beiträge zur Frage der Virusträger, im besonderen bei Schweinerotlauf. [Inaug.-Dissert.] Bern 1909.
- 3) Teutschländer, Die Samenblasentuberkulose und ihre Beziehungen zur Tuberkulose der übrigen Urogenitalorgane. (Beiträge z. Klinik d. Tuberkulose. Bd. 3. 1905. Heft 3.)
- 4) Leguen, De l'ablation des vésicules séminales tuberculeuses. (Société de chirurg. séance des 8 et 15 février 1905. La Semaine médic. 1905. No. 8.)
- 5) Hallé, Noël et Motz, Boleslav, Tuberculose des vésicules séminales. (Annales d. malad. d. organ. génito-urin. 1903. p. 361.)
- 6) Saxtorph, Valeur de l'interv. chir. dans la tubercul. vésic. (Congrès internat. de chir. urin. Paris 1900. p. 101.)
- 7) Simmonds, Ueber Terukformen der Samenblasentuberkulose. (Virchows Arch. Bd. 183. I. Münchn. med. Wochenschr. 1906. No. 16.)
- 8) Baudet et Kendirdjy, De la vaso-vésiculotomie dans les cas de tuberculose génitale. (Rev. de chirurg. 1906. No. 9—12.)
- 9) Weiss, Zur Actiologie und Pathologie der Samenblasenerkrankungen. (Wiener med. Presse. 1904. No. 33, 34.)
- 10) Fuller, E., Seminal vesiculotomy. (The Postgraduate. Oct. 1904. Harvard med. Soc. of New-York City Oct. 22. 1904. Med. News. Jan. 7. 1905.)
- 11) Chute, A. E., Some observations on chronic seminal vesiculitis. (Boston Med. and Surg. Journ. 1901. 13. Jan.)
- 12) Lewis, B., Case of chronic seminal vesiculitis, removal of the vesicles. (M. Lewis, Courier of Med. 1905. April.)
- 13) Lurje, Die Erkrankung der Samenblasen als Komplikation des Trippers. (Russki Journ. Koschnisch Veneritsch Bolesney. St. Petersburg med. Wochenschr. 1903. No. 51.)
- 14) Cohn, Paul, Ein Fall von Lueshaemorrhagica der Samenblasen. (Zeitschr. f. Urologie. 1907.)
- 15) Mayer, Albert, Centralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorg. Bd. 14. 1903.
- 16) Van Duhot, Ann. de la polyclinique centr. de Bruxelles. 1903. p. 121.)
- 17) Jensen, Dtsch. Zeitschr. f. Tiermed. 1894.
- 18) Clark, James, Transmission of pink eye from apparently healthy stallions to mares. (Journ. of compar. Pathol. and Therap. Vol. 5. 1894.)
- 19) Recks, Journ. of comp. Pathol. and Therap. 1902.
- 20) Grimme, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1903.
- 21) Hendrich, Arthur, Vergleichende makroskopische und mikroskopische Untersuchungen über die Samenblase und Ampullen der Samenleiter bei den Haussäuge-

- tieren mit Einschluß von Hirsch und Rehbock. (Intern. Wochenschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. 22. Heft 10—12.)
- 22) Eichbaum, Studien über den Bau und die Funktion der Vesicula seminalis der Haussäugetiere. (Vorträge f. Tierärzte. 1899.)
 - 23) Disselhorst, A., Abführungsapparat und Anhangsdrüsen männlicher Geschlechtsorgane. (Lehrbuch d. vergl. mikrosk. Anat. d. Wirbeltiere von Albert Oppel. T. 4. Jena 1904.)
 - 24) Frank und Martin, Handbuch der Anatomie der Haustiere. 8. Aufl. Stuttgart 1896.
 - 25) Ellenberger und Baum, Handbuch d. vergleichend. Anatomie der Haustiere. 8.—10. Aufl. 1896—1903.
 - 26) Rauther, Max, Ueber den Genitalapparat einiger Nager und Insektivoren, insbesondere die akzessorischen Genitaldrüsen derselben. (Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch. Bd. 38. 1903. Heft 2.)
 - 27) Ninot, Sedgwick, Chartes, Zur Kenntnis der Samenblasen beim Meeresschweinchen. (Aus dem Laboratory for Histology and Embryology of the Harvard School. Boston 1885.)
 - 28) Rehfish, E., Neue Untersuchungen über die Physiologie der Samenblasen. (Dtsch. med. Wochenschr. 1896. No. 16.)

Nachdruck verboten.

Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa¹⁾.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Universität zu Kolozsvár (Direktor: Prof. v. Löte.)]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten am Institute.

Auf der XXXIV. Wanderversammlung der ungarischen Aerzte und Naturforscher, am 26. August 1907, konnte ich über Untersuchungen Mitteilung machen, welche über die Vererbung der Immunität gegen Lyssa sprachen. Diese Mitteilung erschien samt diesbezüglicher Literatur sowohl in ungarischer („Klinikai füzetek“ Oktober- und November-Heft 1907), als auch in deutscher Sprache (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 46), weshalb ich in dieser zweiten Mitteilung die Literatur vermeide und nur diejenige erwähne, welche seit jener Zeit erschienen ist. Da aber diese Untersuchungen eine direkte Fortsetzung der vorigen bilden, so sollen die dort mitgeteilten Endresultate auch hier erwähnt werden, um einen leichteren Ueberblick zu bekommen.

I. Beschreibung der Untersuchungen.

Alle Untersuchungen wurden an Hunden unternommen, die nach der Methode von v. Högyes immunisiert worden waren. Der Plan der Untersuchungen war auch jetzt der, daß wir die Jungen desselben Wurfes nacheinander in mehr oder minder großen Zwischenräumen auf ihre Giftfestigkeit prüften und so die zeitige Grenze für das Bestehen der Immunität feststellten, wie dies Ehrlich und Hübener forderten. Ich prüfte in diesen Untersuchungen die Rolle des Vaters, der Mutter und diejenige der Säugung, suchte die Immunität in den Enkeln und untersuchte das rabizide Vermögen des Serums solcher Jungen, die von immunisierten Eltern stammten oder eine erworbene Lyssaimmunität besaßen.

¹⁾ Vortrag, gehalten in der gemeinsamen Sitzung (Immunitätslehre) des 16. internationalen Medizin. Kongresses in Budapest.

Immunisierung während der Schwangerschaft.

Hündchen No. 1.

Körpergewicht im Alter von	4 Wochen	1700 g
„ „ „ „	6 „	2200 „
„ „ „ „	8 „	2500 „
„ „ „ „	9 „	3350 „

Hündchen No. II.

Körpergewicht	im	Alter	von	4	Wochen	1700	g
"	"	"	"	6	"	2150	"
"	"	"	"	8	"	2550	"
"	"	"	"	11	"	4000	"

Hündchen No. III.

Körpergewicht im Alter von	4 Wochen	1600 g
"	10	3000 "
"	14	5400 "

Hündchen No. IV.

Körpergewicht	im	Alter	von	4	Wochen	1450	g
"	"	"	"	10	"	2150	"
"	"	"	"	14	"	3000	"
"	"	"	"	18	"	4000	"

Hündchen No. V.

Körpergewicht im Alter von	4 Wochen	1200 g
"	12	3700 "
"	16	5000 "
"	22	7500 "

Es wird in diesem Alter mit fixem Virus subdural infiziert. Nach dieser schweren und bis jetzt in allen Fällen als sicher erwiesenen Infektion blieb es dennoch gesund und zeigte während einer Beobachtungsdauer von $1\frac{1}{4}$ Jahr gar keine Erscheinungen, die Kontrolltiere erlagen aber in 8 Tagen.

Zweite Untersuchungsreihe.

In dieser Untersuchungsreihe wurde die Giftfestigkeit solcher Nachkommen geprüft, deren Eltern sich ihre Immunität schon vor der Konzeption erworben haben, und zwar erwarb sich der Vater seine Immunität $3\frac{1}{2}$ Jahre, die Mutter hingegen 5 Monate vor der Konzeption. 6 Wochen nach dem Wurf sind die Eltern noch giftfest.

Von diesen immunen Eltern bekamen wir am 23. März 1907 6 Junge. Alle sind Männchen. Die Inokulation dieser geschah in folgender Reihenfolge:

Erstes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	1000 g
" " " " 5 "	1650 "
" " " " 7 "	2350 "

In diesem Alter wurde es mit 1,0 ccm einer aus dem Marke eines an Straßenwut zugrunde gegangenen Hundes verfertigten Emulsion intramuskulär neben der Wirbelsäule infiziert. 30 Tage nach der Infektion bekam das Tierchen die Wut und ging nach 5 Tagen daran zugrunde.

Zweites Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	850 g
" " " " 7 "	1850 "
" " " " 8 "	2200 "

Es wird in diesem Alter in der gleichen Weise mit der gleichen Dosis, wie das vorige infiziert. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen erlag das Kontrollkaninchen und Meerschweinchen nach 16–21 Tagen an der Wut.

Drittes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	1000 g
" " " " 9 "	3000 "
" " " " 12 "	5050 "

In diesem Alter wird es mit Straßenwut in der gleichen Weise infiziert. 24 Tage nach der Infektion erkrankte es unter den typischen Erscheinungen der Lyssa und ging in 48 Stunden daran zugrunde.

Viertes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	900 g
" " " " 7 "	2000 "
" " " " 10 "	5700 "

Probeinfektion in diesem Alter in der obigen Weise. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen bekam das subkutan infizierte Kontrollmeerschweinchen und -Kaninchen die Wut nach 18, resp. 25 Tagen.

Fünftes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	800 g
" " " " 15 "	3950 "
" " " " 25 "	5200 "

Es bekommt in diesem Alter intramuskulär 1,0 ccm Markemulsion aus einem an Straßenwut zugrunde gegangenen Pferde. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen gingen alle Kontrolltiere an typischer Wut ein, und zwar ein subkutan infiziertes Meerschweinchen, ein intramuskulär inokulierter Hund nach 12, ein in gleicher Weise geimpftes Kaninchen nach 14 Tagen.

Sechstes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 3 Wochen	900 g
" " " " 13 "	4000 "
" " " " 27 "	8000 "

Es wird in diesem Alter mit Straßenvirus subdural infiziert. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen erlag der zur Kontrolle intramuskulär geimpfte Hund nach 15 Tagen unter den typischen Symptomen der Hundswut.

Dritte Untersuchungsreihe.

Die Eltern sind dieselben, wie in der vorigen Reihe. Beide sind nach dem Wurf noch giftfest. Von diesen Immunen Eltern bekamen wir am 11. November 1907 6 Junge, von denen eines wegen einem Unfall vor der Zeit zugrunde ging, die anderen 5 wurden in folgender Reihenfolge infiziert:

Hündchen No. I.

Körpergewicht im Alter von 12 Wochen 2200 g

" " " " 29 " 6000 "

Es bekommt in diesem Alter intramuskulär neben der Wirbelsäule 1,0 ccm Markemulsion aus einem an Strassenwut zugrunde gegangenen Hunde. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen ging der zur Kontrolle infizierte Hund in 20 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Hündchen No. II.

Körpergewicht im Alter von 35 Wochen 7500 g. Es bekommt in derselben Weise wie das vorige 1,0 ccm Emulsion (Straßenwut). Es blieb gesund und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen, hingegen gingen die Kontrolltiere: ein Meerschweinchen und ein Kaninchen, binnen 15—19 Tagen an Straßenwut zugrunde.

Hündchen No. III.

Körpergewicht im Alter von 40 Wochen 8000 g. Probeinfektion in der obigen Weise mit 2,0 ccm Straßenwut-Emulsion. 16 Tage nach der Infektion erkrankte es unter den typischen Wutsymptomen und ging innerhalb 24 Stunden daran zugrunde.

Hündchen No. IV.

Körpergewicht im Alter von 42 Wochen 8200 g. Wird ebenfalls mit 2,0 ccm Markemulsion in der obigen Weise infiziert. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 1 Jahr gar keine Erscheinungen. Die Kontrolltiere: ein Meerschweinchen und ein Kaninchen, erlagen in 14—18 Tagen an der Wut.

Hündchen No. V.

Körpergewicht im Alter von 44 Wochen 6500 g. Probeinfektion mit 2,0 ccm Straßenwut-Emulsion intramuskulär. Nach 22 Tagen erkrankte es an Wut und ging innerhalb 24 Stunden zugrunde.

Vierte Untersuchungsreihe.

In dieser Untersuchungsreihe wurden solche Nachkommen auf ihre Giftfestigkeit geprüft, deren Vater eine erworbene, die Mutter aber eine angeborene Immunität hatte. Der Vater hatte sich seine Immunität vor 5 Jahren erworben und wurde während dieser Zeit dreimal subdural infiziert. Das Muttertier ist das Hündchen No. II aus der ersten Untersuchungsreihe, welches, wie wir sahen, im Alter von 11 Wochen giftfest war und 8 Monate nachher, am 15. April 1907, auch nach der subduralen Infektion gar keine Erscheinungen der Wut zeigte.

Von diesen Eltern bekamen wir am 11. August 1907 6 Junge, von denen aber eines noch vor der Zeit zugrunde ging, die übrigen wurden in folgender Reihenfolge infiziert:

Hündchen No. I.

Körpergewicht im Alter von 30 Tagen 1000 g. Wird mit Straßenwutvirus intramuskulär infiziert. Es hatte 0,5 ccm Markemulsion bekommen. Nach 15 Tagen Tod an typischer Lyssa.

Hündchen No. II.

Körpergewicht im Alter von 43 Tagen 1500 g. Probeinfektion wie bei dem vorigen. Nach 10 Tagen Tod an typischer Lyssa.

Hündchen No. III.

Körpergewicht im Alter von 45 Tagen 2000 g. Wird mit Straßenvirus intramuskulär infiziert. 13 Tagen nach der Infektion Tod an typischer Lyssa.

Hündchen No. IV.

Körpergewicht im Alter von 10 Wochen 3350 g. Probeinfektion in diesem Alter mit 1,0 ccm Straßenvirus. 14 Tage nach der Infektion Tod an typischer Lyssa.

Hündchen No. V.

Körpergewicht im Alter von 14 Wochen 2500 g. Wird mit 1,0 ccm Straßenvirus intramuskulär infiziert. Tod an typischer Lyssa nach 14 Tagen.

Bemerken muß ich, daß diese Jungen bis zu ihrem 45. Lebenstage nur von Muttermilch lebten.

Fünfte Untersuchungsreihe.

Der Vater der in dieser Untersuchungsreihe beschriebenen Jungen ist derselbe, wie in der vierten Serie, die Mutter ist das Hündchen No. III der ersten Untersuchungsreihe, welches, wie wir sahen, im Alter von 14 Wochen giftfest war und 8 Monate nachher, am 15. April 1907, auch nach der subduralen Infektion gar keine Erscheinungen zeigte.

Von diesen Eltern bekamen wir am 17. November 1907 7 Junge, von denen 5 vor der Zeit zugrunde gingen und so blieben nur zwei, welche in folgender Reihenfolge infiziert wurden.

Die Eltern waren nach dem Wurf giftfest.

Hündchen No. I.

Körpergewicht im Alter von 23 Wochen 16,5 kg. In diesem Alter bekommt es aus einer Straßenvirus-Emulsion je 1 ccm in die lange Rückenmuskulatur an beiden Seiten der Wirbelsäule. 11 Tage nach der Infektion wurde es wütend und ging unter den typischen Erscheinungen der Wut nach 3 Tagen zugrunde.

Hündchen No. II.

Körpergewicht im Alter von 29 Wochen 15,5 kg. Probeinfektion wie vorher mit je 1 ccm einer Markemulsion aus einem Kaninchen, welches am 20. Tage nach der Infizierung mit *Lyssa humana*-Virus eingegangen ist. 24 Tage nach dieser Infektion wurde das Tier wütend, die ausgebrochene Krankheit dauerte 11 Tage lang.

Sechste Untersuchungsreihe.

In dieser Serie wurde die Giftfestigkeit solcher Jungen geprüft, welche von einem immunen Vater und einer nicht immunisierten Mutter stammten. Der Vater ist derselbe, wie in den vorherigen Serien, die Mutter ein gesundes, nicht immunisiertes Tier.

Von diesen Eltern bekamen wir am 22. Mai 1908 6 Junge, welche nach ihren äußeren Merkmalen der Mutter ähnlich waren und in folgender Reihenfolge infiziert wurden:

I. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 7 Wochen 4300 g. Es wird mit Straßenvirus intramuskulär infiziert. 21 Tage nach der Infektion wurde es wütend, zu gleicher Zeit wie die Kontrolltiere, die ausgebrochene Krankheit dauerte 3 Tage lang, wonach es wieder munterer war und ganz genas. Um zu sehen, ob es noch giftfest ist, wurde es am 10. September 1908, im Alter von 16 Wochen bei einem Körpergewicht von 9200 g wieder infiziert. Es erhielt an den beiden Seiten der Wirbelsäule je 1 ccm Straßenvirus intramuskulär. Es schien ganz ohne Erscheinungen zu bleiben, als endlich am 17. Januar 1909, also nach 129 Tagen das Tier wütend wurde und nach einer Krankheitsdauer von 28 Stunden zugrunde ging. Bemerken muß ich, daß bei der zweiten Infektion dieses Hündchens mehrere Kontrolltiere infiziert wurden, und zwar ein Hund und ein Meerschweinchen intramuskulär, ein Kaninchen und ein Meer-

schweinchen subdural. Erstere erlagen der Wut nach 14, von den letzteren bekam das Kaninchen die Krankheit nach 15, das Meerschweinchen nach 22 Tagen. Dies soll deshalb erwähnt werden, um nicht daran denken zu können, daß die Abschwächung des Virus die Ursache der langen Inkubation gewesen wäre. Gegen diese Meinung spricht auch der Umstand, daß die aus diesem Hündchen weitergeimpften Tiere alle nach einer normalen Inkubation zugrunde gingen. Es wurden nämlich aus diesem Hündchen zwei Hunde intramuskulär, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural infiziert. Von diesen Hunden ging der eine nach 16, der andere nach 22 Tagen unter den typischen Symptomen der Wut ein, das Kaninchen wurde binnen 17, das Meerschweinchen nach 21 Tagen wütend und gingen innerhalb 24 Stunden daran zugrunde. Die lange Inkubation nach der zweiten Infektion kann man aus dem Umstande erklären, daß dieses Hündchen nach seiner ersten Probeinfektion im Alter von 7 Wochen einen leichten Wutanfall durchgemacht hatte und so sich eine gewisse aktive Immunität erworben hat. Aus dem Umstande aber, daß es nach seiner ersten Infektion genas, könnte man vielleicht annehmen, daß es doch eine gewisse Giftfestigkeit vom Vater vererbt hat, sonst wäre es zugrunde gegangen.

II. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 11 Wochen 4550 g. Probeinfektion wie beim vorigen. 13 Tage später Tod unter den typischen Symptomen der Wut.

III. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 11 Wochen 6900 g. Wird zu gleicher Zeit, wie das vorige, in derselben Weise infiziert. 16 Tage nach der Infektion wurde es wütend und ging nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen daran zugrunde.

IV. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 16 Wochen 6600 g. Probeinfektion wie bei den vorigen. 13 Tage später Wut und Tod nach 24 Stunden.

V. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 35 Wochen 9,5 kg. Probeinfektion in derselben Weise. Nach 12 Tagen Ausbruch der Wut und Tod nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen.

VI. Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 35 Wochen 14,3 kg. Probeinfektion zu gleicher Zeit und in derselben Weise wie No. V. Nach 19 Tagen Wut und Tod nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen.

Siebente Untersuchungsreihe.

Die in dieser Serie auf ihre Giftfestigkeit geprüften Hündchen stammen von einer immunisierten Mutter und einem nicht immunisierten Vater. Die Mutter ist dieselbe, wie in der I., II. und III. Untersuchungsserie, der Vater ein ganz gesundes Männchen. Die Mutter war 5 Wochen nach dem Wurf noch giftfest.

Von diesen Eltern bekamen wir am 16. August 1908 6 Junge, welche ihren äußeren Merkmalen nach dem Vater ähnlich waren. Eines ging an einem Unfall vor der Zeit zugrunde, die anderen 5 wurden in folgender Reihenfolge infiziert:

Erstes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 39 Tagen 1700 g. In diesem Alter wurde es mit 1,0 ccm einer aus dem verlängerten Marke eines an Straßenwut zugrunde gegangenen Hundes verfertigten Emulsion intramuskulär neben der Wirbelsäule infiziert. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 9 Monaten gar keine Erscheinungen, hingegen ging der zur Kontrolle infizierte Hund nach 14 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Zweites Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 16 Wochen 7500 g. Probeinfektion wie beim vorigen. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 6 Monaten gar keine Erscheinungen, hingegen erlagen die Kontrolltiere der Wut, und zwar das Meerschweinchen nach 22, das Kaninchen nach 24 Tagen.

Drittes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 19 Wochen 7200 g. Probeinfektion in derselben Weise, aber mit je 2 ccm Virus. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 6 Monaten gar keine Erscheinungen, hingegen gingen die Kontrolltiere unter den typischen Wutsymptomen zugrunde, und zwar ein Kaninchen und ein Meerschweinchen nach 21 Tagen.

Viertes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 22 Wochen 7500 g. Probeinfektion wie beim vorigen. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 6 Monaten gar keine Erscheinungen, hingegen gingen die zur Kontrolle infizierten 2 Hunde, ein Kaninchen und ein Meerschweinchen nach 16—20 Tagen an der Wut ein.

Fünftes Hündchen.

Körpergewicht im Alter von 44 $\frac{1}{2}$ Wochen (10 Monate und 7 Tage) 14,5 kg. Probeinfektion wie bei den vorigen. Es blieb am Leben und zeigte während einer Beobachtungsdauer von 20 Wochen gar keine Erscheinungen¹⁾, hingegen ging das zur Kontrolle mit 1 ccm intramuskulär infizierte Meerschweinchen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

II. Erläuterung der Untersuchungen.

Aus der ersten Untersuchungsserie sehen wir, daß von den 5 Jungen einer Mutter, deren Immunisierung während der Schwangerschaft durchgeführt wurde, vier giftfest waren im Alter von 11, 14, 18, resp. 22 Wochen, hingegen zeigte das erste Glied im Alter von 9 Wochen keine Giftfestigkeit.

Wie kann man diese langdauernde Giftfestigkeit und den Tod des ersten Hündchens erklären? Zum leichteren Verstehen der ersten Frage ist es notwendig zu wissen, daß die Trächtigkeit beim Hunde 58—65 Tage dauert. Es trat also die Konzeption bei dieser Hündin Anfang Februar 1906 ein. Sie war demnach seit 3 Wochen trächtig von einem gesunden, nicht immunisierten Hunde, als ihre Immunisierung am 26. Februar 1906 begann. Es hat also weder das Spermatozoon noch die Eizelle eine Rolle bei der Uebertragung der Immunität, und wenn die Jungen dennoch giftfest sind, so haben sie diese Eigenschaft entweder intrauterin erworben, oder es wurden die Schutzstoffe nach der Geburt mit der Milch übertragen.

Welcher von diesen zwei Faktoren könnte bei dem Zustandekommen dieser Immunität die größte Rolle gespielt haben? Man könnte annehmen, daß die während der Immunisierung im mütterlichen Organismus gebildeten rabiziden Substanzen die Placenta passierten, oder aber, daß nicht nur die fertigen Schutzstoffe, sondern auch das ihre Produktion bedingende und in langsam sich vermehrender Quantität eingeführte Virus selbst durch die Placenta in den Organismus der Föten übertragen wurde, und wie der mütterliche Organismus, so auch der fötale sich eine aktive Immunität erworben hat und mit dieser geboren wurde. Und dies könnte man um so eher annehmen, weil, wie wir sahen, das Muttertier am Ende ihrer Immunisierung einen leichten Wutanfall durchgemacht hatte. Ich glaube diese langdauernde Immunität der Jungen auf diese Weise erklären zu können, denn die mit der Milch eingelangten Schutzstoffe haben gar keinen Anteil daran gehabt, wie auch die späteren Untersuchungen zeigten.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Die Infektion geschah am 23. Juni 1909. Das Tier lebt noch am 8. November 1909.

Was den Tod des ersten Hündchens anbelangt, so glaube ich, daß die Ursache einerseits durch die Größe und Virulenz der infizierenden Dosis, andererseits durch das jugendliche Alter des Tieres erklärt werden könnte. Es ist ja schon aus den Untersuchungen von Tizzoni und Centanni¹⁾ bekannt, daß man die ersten Probeinokulationen der Jungen mit nicht allzu kräftigem Virus ausführen soll. Diese Dosis war aber nicht nur von großer Virulenz, sondern auch zu groß, da z. B. Nitsch²⁾ die Dosis letalis minima des fixen Virus für 0,001 mg fand. Dies bezieht sich aber auf die subdurale Infektion, aber nach den Beobachtungen von Fermi³⁾ ist die kleinste tödliche Dosis auch bei subkutaner Infektion des fixen Virus viel kleiner. Nach Fermi ist diese Dosis 1:50 000.

Wenn wir die angeführten Daten in Betracht nehmen, so sehen wir, daß dieses Hündchen eine zu große Dosis bekam, von welcher auch ein Organismus mit erworbener aktiver Immunität zugrunde ginge.

Es soll noch erwähnt werden, daß dieses Muttertier, wie ich dies schon in meiner ersten Mitteilung beschrieb, 6 Monate nach Beendigung seiner Immunisierung (September 1906) einer Probeinfektion unterworfen wurde, und zwar mit fixem Virus subdural. 10 Tage nach dieser Infektion wurde es wütend, genas aber nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen. Die Mutter erwarb sich also während ihrer Immunisierung eine geringere Immunität als ihre Jungen, weil der V. (5) von diesen, welcher in gleicher Weise infiziert wurde, im Alter von beinahe 6 Monaten nicht einmal krank wurde. Ich sprach schon damals die Meinung aus: „Geschieht vielleicht die Produktion der Antikörper im jungen Organismus energischer?“ Dies soll deshalb hier hervorgehoben werden, weil Remlinger⁴⁾ in seiner jetzt erschienenen Mitteilung auch derselben Meinung ist. Diesbezüglich finden wir bei Remlinger folgendes: Une question intéressante se pose au sujet de l'immunité antirabique acquise pendant la gestation. Est-elle active ou passive? Les anticorps se forment-ils chez le fœtus ou, formés chez la mère, traversent-ils banalement le placenta? Konrádi, ainsi que nous l'avons vu, admet la première de ces hypothèses et il explique à la fois par la formation des anticorps chez le fœtus et par leur production plus énergique dans un organisme jeune la solidité de l'immunité observée dans la majorité de ses expériences. Que la production des anticorps rabiques soit plus énergique dans un organisme jeune que dans un organisme adulte, nous sommes assez disposé à l'admettre.

Die Jungen der II. und III. Untersuchungsreihe stammen von ein und denselben immunisierten Eltern. Ihre Probeinfektion wurde so kontempliert, daß die Glieder der III. Serie eine direkte Fortsetzung der II. bilden. In der II. Serie waren 4 unter 6 Jungen im Alter von 8, 16, 25 und 27 Wochen giftfest und zweinicht, und zwar im Alter von 7, resp. 12 Wochen, in der III. Serie waren unter fünf Nachkommen drei im Alter von 29, 35 und 42 Wochen giftfest, zwei aber nicht, und zwar im Alter von 40, resp. 44 Wochen.

1) Tizzoni und Centanni, Die Vererbung der Immunität gegen Rabies von dem Vater auf das Kind. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 13. p. 81.)

2) Nitsch, Expériences sur la rage de laboratoire. Cracovie 1905. p. 359.

3) Fermi, Ueber die Verteilung des Lyssavirus im Nervensystem. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 438.)

4) Remlinger, Contribution à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité antirabique. (Annal. Pasteur. T. 23. 1909. p. 430.)

Wie diese Ergebnisse beweisen, können die Nachkommen eine solche Immunität vererben, welche die Eltern eine geraume Zeit vor der Konzeption sich erworben haben. Die auf diese Weise vererbte Immunität scheint eine allgemeine Regel zu sein, aber es kommen Ausnahmen vor, die Jungen ein und desselben Wurfes zeigen nämlich kein gleiches Verhalten, manche vererben eine solche Eigenschaft, andere nicht. Ob diese individuelle Verschiedenheit im Sinne Dzierzowskis¹⁾, daß nämlich bezüglich der Uebertragungsfähigkeit der Immunität die antitoxische Kraft der Follikelflüssigkeit eine verschiedene ist, erklärt werden könne, oder aber andere noch unbekannte Ursachen hat, bleibt eine Frage, daß aber solche individuelle Verschiedenheiten vorkommen, beweisen sehr viele Erfahrungen.

Die Nachkommen der IV. und V. Untersuchungsserie stammen von solchen Eltern, deren Vater eine erworbene, die Mutter aber eine angeborene Immunität besaß. Der Vater ist derselbe in beiden Serien, die Mutter aber das II., resp. III. Hündchen der I. Untersuchungsserie. Bemerken muß ich aber, daß die Immunität der Mutter keine rein angeborene ist, da beide Mütter zweimal Probeinfektionen unterworfen wurden und zwar je einer intramuskulären im Alter von 11, resp. 14 Wochen und je einer subduralen im Alter von 8 Monaten, wodurch sie zu ihrer angeborenen Immunität auch eine aktive sich erworben haben.

Die Jungen der IV. Serie gingen aber alle zugrunde nach einer Probeinfektion im Alter von 30, 43, 45 Tagen, resp. 10 und 14 Wochen, gleichfalls die zwei Jungen der V. Serie nach einer Infektion im Alter von 23, resp. 29 Wochen. Es ist zwar wahr, daß das Hündchen No. II dieser letzten Serie nach einer Krankheitsdauer von 11 Tagen zugrunde ging, wie wir dies bei der Besprechung der Experimente sahen.

Es ist eine auffällige Sache, bei einem jungen Tiere eine Krankheitsdauer von 11 Tagen zu beobachten, besonders wenn wir die Virulenz des Virus in Betracht nehmen, so daß hier eine Abschwächung des Virus ausgeschlossen ist.

Dies kann entweder auf einer individuellen Eigenschaft beruhen, oder aber hat dieses Hündchen eine gewisse Giftfestigkeit von seinen Eltern ererbt. Wahr ist es zwar, daß die Jungen der IV. Untersuchungsreihe gar keine Giftfestigkeit zeigten und auch das erste Glied dieser Serie zugrunde ging, aber so viel kann man sagen, daß das Wutvirus in diesem Hündchen abgeschwächt wurde. Dafür spricht auch der Umstand, daß von den aus ihm weitergeimpften 2 Kaninchen nur das eine an Lyssa erkrankte und auch dieses erst nach 136 Tagen, das andere lebt noch, obwohl seit seiner subduralen Infektion ein Jahr verflossen ist und unter den aus ihm weitergeimpften 2 Hunden der eine am 21. Tage krank wurde, aber nach einer Krankheitsdauer von 4 Tagen genas, der andere aber gar keine Erscheinungen zeigte und nach einer zweiten Infektion, die 2 Monate später unternommen war, nach einer Inkubation von 22 Tagen an Wut erkrankte und binnen 36 Stunden zugrunde ging.

Die 6 Jungen der VI. Untersuchungsserie stammen von einem immunisierten Vater und einer nicht immunisierten Mutter. Von diesen

1) Dzierzowski, Zur Frage der Vererbung von künstlicher antidiphtheritischer Immunität. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 884.)

zeigten 5 gar keine Giftfestigkeit in einem Alter von 11, 11, 16, 35, 35 Wochen; das erste Glied besaß aber doch eine gewisse Immunität bei einer Probeinfektion im Alter von 7 Wochen. Es erkrankte zwar, ist aber genesen.

Die 5 Jungen der VII. Serie stammen von einer immunisierten Mutter und einem nicht immunisierten Vater. Diese waren alle giftfest in einem Alter von 39 Tagen, 16, 19, 22 und 44½ Wochen.

Wie diese Ergebnisse beweisen, ist die Immunität gegen Lyssa vererbbar. In dieser Vererbung kommt dem Vater kaum eine Rolle zu, hingegen besitzt diese Fähigkeit in großem Maße die Mutter. Es scheint, als ob diese Fähigkeit der Mutter während den folgenden Trächtigkeiten immer größer und größer wäre. Diese Untersuchungen beweisen noch, daß die angeborene und vererbte Immunität ziemlich langdauernd ist. Nach den bisherigen Erfahrungen dauert sie bestimmt 10 Monate lang und vielleicht noch länger. Diesbezügliche weitere Untersuchungen sind im Gange, in welchen das erste Glied im Alter von 1 Jahr und so weiter infiziert wird. Mein Ziel ist, den natürlichen Infektionsmöglichkeiten gemäß, diese Jungen durch wütende Hunde beißen zu lassen, denn in praktischer Hinsicht wäre es sehr wichtig zu kennen, wie lange gegen eine solche Infektion die angeborene und vererbte Immunität dauert. Wahrscheinlich wird sich die Erfahrung von Süpfle¹⁾ auch hier bestätigen lassen. Süpfle beobachtete nämlich, daß der Schutz gegen spontane Pocken länger dauert als gegen kutan inseriertes Variola- oder Vaccinevirus.

Diese Untersuchungen waren schon abgeschlossen, als eine diesbezügliche sehr interessante Mitteilung von Remlinger²⁾ am 25. Mai 1909 erschien, in welcher Remlinger meine ersten Untersuchungen durch seine Experimente bestätigen konnte. Remlinger vollführte seine Untersuchungen an Kaninchen, und zwar mit fixem Virus.

Bei der Untersuchung der Rolle des Vaters bei der Uebertragung der Immunität gegen Lyssa kam Remlinger zu dem Schlusse, daß dem Vater gar keine Rolle zukommt, da unter 3 Jungen, die von einem immunisierten Vater und einer nicht immunisierten Mutter stammten, bei einer Probeinfektion im Alter von 4 Monaten kein einziges giftfest war.

Die Mutter wurde teils vor, teils während der Schwangerschaft immunisiert, und so untersuchte Remlinger in drei Untersuchungsreihen „la transmission de l'immunité par voie ovulaire“ und in zwei Reihen „par voie placentaire“.

Im ersten Experimente der I. Serie stammten von einer immunisierten Mutter 4 Junge, von denen 2 im Alter von 3 Monaten infiziert wurden. Eines ging an der Wut zugrunde, das andere war giftfest, ging aber bei einer zweiten Probeinfektion im Alter von 6 Monaten unter den typischen Symptomen der Wut ein. Die anderen 2 wurden im Alter von 6 Monaten zum erstenmal infiziert, gingen aber beide 8. resp. 10 Tage später ein als die Kontrollkaninchen. Von dieser

1) Süpfle, Die Vaccineimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. 68. p. 237.)

2) Remlinger, l. c.

Mutter bekam Remlinger nach einem halben Jahre zwei Nachkommen, welche bei einer Probeinfektion im Alter von 3 Monaten gar keine Immunität zeigten, trotzdem die Mutter noch giftfest war.

Im zweiten Experimente dieser Serie stammten von einer immunisierten Mutter 4 Junge, von denen bei einer Probeinfektion im Alter von 3 Monaten nur eines immun war, die anderen 3 gingen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein, aber erst 11, 13 und 21 Tage später als die Kontrolltiere.

Im dritten Experimente dieser Serie stammten von einer immunisierten Hündin 8 Junge. Diese hat Remlinger alle im Alter von 15 Tagen infiziert. 6 unter ihnen erkrankten an der Wut nach 8, 9, 10, 12, 15, resp. 65 Tagen, 2 blieben aber am Leben.

Nach diesen Untersuchungen kommt Remlinger zu dem Schlusse, daß „la transmission de l'immunité par voie ovulaire est possible mais non fatale“ und daß „la transmission de l'immunité héréditaire par la voie de l'ovule semble enfin plus manifeste chez le lapin que chez le chien“.

Im ersten Experimente der II. Serie stammten von einer während der Trächtigkeit immunisierten Mutter 4 Junge. 2 unter diesen waren im Alter von 2 Monaten giftfest, von den anderen 2 erwies sich das eine bei einer Probeinfektion im Alter von 5 Monaten giftfest, das andere aber nicht, denn es bekam die Wut mit einer Verspätung von 10 Tagen gegenüber dem Kontrolltier. Die ersten zwei, welche im zweimonatlichen Alter giftfest waren, gingen bei einer zweiten Infektion im Alter von 6 Monaten unter den typischen Wuterscheinungen zugrunde.

Im zweiten Experimente dieser Serie stammten von einer während der Schwangerschaft immunisierten Mutter 3 Junge, welche im Alter von 4 Monaten infiziert wurden, zu gleicher Zeit, als das Muttertier. Die Mutter war noch giftfest, von den 3 Jungen ging das eine nach 25 Tagen zugrunde, 2 waren aber immun. Diese wurden 2 Monate später im Alter von 6 Monaten auf einmal mit dem Muttertier subdural infiziert und gingen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Aus diesen Erfahrungen zieht Remlinger den Schluß, daß „la transmission de l'immunité par voie placentaire l'emporte en fréquence et en solidité sur la transmission par la voie ovulaire“.

Remlinger untersuchte auch die Rolle der Ernährung im Sinne Ehrlichs und kam zu dem Schlusse, daß sie gar keine Rolle spiele.

III. Wirkung des Serums giftfester Tiere auf das Wutvirus.

Es schien interessant, zu wissen, welche Wirkung das Serum giftfester Tiere auf das Wutvirus hat, denn aus solchen Untersuchungen könnte man folgern, ob wir den ursprünglichen Sitz der Immunität im Serum zu suchen haben, oder daß auch hier eine celluläre Immunität vorliegt, wie dies Süpfle bei der Vaccineimmunität fand.

Aus diesem Grunde wurde das Serum immunisierter und solcher Tiere, die eine angeborene oder ererbte Immunität zeigten, mit Straßenvirus gemischt. Diese Mischung, welche immer aa partes aequales verfertigt wurde, blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur, manchmal auch bei einer höheren, oder niedrigeren, und sonach wurden Meerschweinchen und Kaninchen teils subdural, teils intramuskulär geimpft. Von den Inokulationen wurden gewöhnlich Aussaaten auf Agar-Agar angelegt, um zu sehen, ob diese Mischungen steril sind. Es sei schon im voraus bemerkt, daß diese Aussaaten immer steril blieben. Es wurden auch in jedem Falle mit dem reinen Virus Impfungen gemacht, um die Virulenz desselben zu bestimmen.

Die erste diesbezügliche Untersuchung geschah am 8. Juli 1907. Es wurde aus der Vena margin. auric. des IV., V und VI. Hündchens der II. Untersuchungsreihe (Jungen eines immunisierten Vaters und einer immunisierten Mutter) je 10–10 ccm Blut entnommen und das aus diesem nach 20 Stunden ausgeschiedene Serum *aa partes aequales* mit Straßenvirus gemischt. Die Virusemulsion wurde vorher durch einen sterilen Papierfilter filtriert. Diese Mischung lag 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 17° C, während welcher Zeit dieselbe öfters gut durchgeschüttelt wurde. Es wurde dann aus jeder Mischung je ein Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural infiziert. Die zur Kontrolle mit dem reinen, aber ebenfalls filtrierten Virus infizierten Meerschweinchen und Kaninchen gingen binnen 30 Tage unter den typischen Wutsymptomen ein, am selben Tage erlagen auch die mit der Serum-Virusmischung des IV. und VI. Hündchens geimpften Meerschweinchen, ja sogar das mit der Mischung des V. Hündchens infizierte Meerschweinchen noch früher, und zwar am 22. Tage nach der Infektion. Die Kaninchen gingen auch alle an Wut ein, aber viel später, und zwar das mit der Virus-Serummischung des V. Hündchens infizierte nach 225, das des VI. nach 290 und das des IV. nach 499 Tagen.

Die zweite Untersuchung wurde mit dem Serum des IV. Hündchens der I. Untersuchungsreihe gemacht. Dieses Tier war, wie wir sahen, im Alter von 18 Wochen bei einer Probeinfektion mit Virus fixe, giftfest, ja dasselbe zeigte sogar auch nach der subduralen Infektion mit Straßenvirus im Alter von 1 Jahr und 11 Tagen (am 15. April 1907) gar keine Erscheinungen. Das Blut wurde aus der Carotis entnommen und das Serum mit Straßenvirus gemischt. Nach 24 Stunden wurde mit dieser Mischung ein Kaninchen subdural und ein Meerschweinchen intramuskulär infiziert. Das Meerschweinchen ging zu gleicher Zeit wie das Kontrollkaninchen zugrunde, und zwar am 29. Tage, das Kaninchen aber erlag einem Unfall.

Die dritte Untersuchung wurde am 18. November 1907 mit dem Serum des II. Hündchens der ersten Untersuchungsreihe gemacht. Dieses Tier war, wie wir dort sahen, im Alter von 11 Wochen gegen Virus fixe giftfest und widerstand auch der subduralen Infektion mit Straßenvirus im Alter von 1 Jahr und 11 Tagen. Das aus dem Carotisblut gewonnene Serum wurde *aa partes aequales* mit Straßenvirus gemischt und nach 24 Stunden wurden 2 Kaninchen subdural und ein Meerschweinchen intramuskulär infiziert. Das zur Kontrolle mit reinem Virus subdural geimpfte Kaninchen ging unter den typischen Erscheinungen der Wut nach 20 Tagen ein, das mit der Virus-Serummischung infizierte Meerschweinchen wurde nach 24 Tagen krank und erlag nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen, die Kaninchen bekamen die Wut nach 380, resp. 477 Tagen. In diesem Falle haben wir das Virus auch mit Serum von einem ganz gesunden Hündchen gemischt. Das mit dieser Mischung subdural geimpfte Meerschweinchen erlag nach 38, das Kaninchen nach 46 Tagen.

Die vierte Untersuchung machte ich mit dem Serum von 5 solchen Hündchen, welche von einem immunisierten Vater und einer Mutter stammten, die eine angeborene Immunität besaß. Aus diesen Hündchen wurde an ihrem ersten Lebenstage Blut entnommen und ihr Serum mit Straßenvirus gemischt. Das Virus ist dasselbe wie in der vorigen Untersuchung, so auch die Kontrolle. Ich entnahm das Blut deshalb am ersten Lebenstage, da ich dachte, vielleicht ist das rabizide Vermögen des Serums am ersten Lebenstage größer. Das Resultat hat dies nicht

bestätigen können, denn die Kaninchen bekamen die Wut schon nach 15 Tagen und gingen innerhalb 24 Stunden daran zugrunde, die intramuskulär infizierten Meerschweinchen wurden am 26. Tage wutkrank und gingen nach einer Krankheitsdauer von 3 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Die fünfte Untersuchung wurde mit dem Serum von 4 solchen Hündchen gemacht, welche von immunisierten Eltern stammten. Das Blut wurde an ihrem 7. Lebenstage entnommen und das Serum mit demselben Straßenvirus, wie vorher, gemischt. Das intramuskulär infizierte Meerschweinchen wurde am 31. Tag wutkrank und ging daran zugrunde, von den subdural geimpften Kaninchen ging das eine am 17., das andere am 197. Tage unter den typischen Wutsymptomen ein.

Die sechste Untersuchung wurde mit dem Serum eines solchen Hündchens gemacht, welches von immunisierten Eltern stammte (siehe das II. Glied der II. Serie). Dieses war bei einer Probeinfektion mit Straßenvirus im Alter von 8 Wochen giftfest. Das aus dem Carotisblut gewonnene Serum wurde mit demselben Straßenvirus, wie vorher, gemischt. Das intramuskulär infizierte Meerschweinchen erlag am 27., von den subdural geimpften Kaninchen ging das eine nach einer 3-tägigen Krankheitsdauer am 21., das andere am 212. Tage unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Die siebente Untersuchung machte ich mit dem Serum des V. Hündchens aus der II. Untersuchungsreihe. Dieses war, wie wir dort sahen, im Alter von 25 Wochen dem Straßenvirus gegenüber giftfest. 2 Monate vor seiner Probeinfektion (am 8. Juli 1907) wurde sein Serum auf sein rabizides Vermögen untersucht, wie dies die erste diesbezügliche Untersuchung beweist, hatte aber gar keine Wirkung gezeigt. Nun wollten wir wissen, ob vielleicht jetzt nach der Probeinfektion sein Serum kein rabizides Vermögen habe. Daher wurde sein Serum am 18. November 1907 mit demselben Straßenvirus, wie vorher, gemischt und eingeimpft. Das intramuskulär infizierte Meerschweinchen erlag am 29., von den subdural geimpften Kaninchen ging das eine nach einer Krankheitsdauer von 48 Stunden am 18., das andere nach einer solchen von 24 Stunden am 61. Tage unter den typischen Erscheinungen der Wut ein.

Die achte Untersuchung geschah mit dem Serum des IV. Hündchens der II. Untersuchungsreihe.

Diese Tier war, wie wir dort sahen, im Alter von 16 Wochen giftfest bei einer Probeinfektion mit Straßenvirus. Sein Serum, welches 5 Tage vor seiner Probeinfektion entnommen wurde, hatte gar keine Wirkung auf das Straßenvirus gehabt, wie dies aus der ersten diesbezüglichen Untersuchung zu sehen ist. Aus demselben Grunde, wie in der vorigen Untersuchung, wurde jetzt nach der Probeinfektion sein Serum am 18. Nov. 1907 wieder mit Straßenvirus gemischt und dann Tieren eingeimpft. Eines der subdural infizierten Kaninchen erlag am 33., das andere am 57. Tag unter den typischen Symptomen der Wut, das intramuskulär geimpfte Meerschweinchen ging, wegen einem Unfall, vor der Zeit zugrunde.

Die neunte Untersuchung wurde mit dem Serum des VI. Hündchens der zweiten Serie gemacht. Dieses war im Alter von 27 Wochen nach einer subduralen Probeinfektion mit Straßenvirus giftfest. 2½ Monate vor dieser schweren Infektion zeigte sein Virus gar keine rabiziden Eigenschaften. Aus demselben Grunde, wie in den vorherigen zwei

Untersuchungen, wurde sein Serum abermals mit Straßenvirus gemischt am 18. Nov. 1907. Das intramuskulär infizierte Meerschweinchen erlag am 32. Tage, das eine von den zwei subdural geimpften Kaninchen am 18., das andere am 21. Tage.

Die zehnte Untersuchung wurde mit dem Serum eines aktiv immunisierten Hundes gemacht. Dieser wurde vom 22. Febr. 1906 bis 7. März nach der Methode von Högyes immunisiert. 7 Tage nach Beendigung seiner Immunisierung war er 3 Tage hindurch ein wenig mürrisch, nahm aber Nahrung zu sich. 7 Monate später wurde er mit Virus fixe subdural infiziert. Nach dieser schweren Infektion blieb er am Leben und widerstand auch einer zweiten subduralen Infektion, welche mit Straßenvirus 1 Jahr und 2 Monate nach Beendigung seiner Immunisierung vorgenommen wurde. Er war also in hohem Grade giftfest. Sein Serum wurde am 18. Nov. 1907 mit demselben Straßenvirus gemischt, wie dasjenige der vorigen. Die mit dieser Mischung infizierten Tiere erlagen alle der Wut, und zwar das intramuskulär geimpfte Meerschweinchen am 33., das eine der subdural infizierten Kaninchen am 17., das andere am 118. Tage nach der Injektion.

Die elfte Untersuchung geschah ebenfalls mit dem Serum eines immunisierten Hundes, welcher zur selben Zeit immunisiert wurde wie derjenige der zehnten Untersuchung. Dieser war nach Beendigung seiner Immunisierung ebenfalls krank, wurde aber nach 3-tägiger Krankheit wieder normal und widerstand 7 Monate später der subduralen Infektion mit Virus fixe, hingegen erkrankte er bei der zweiten Probeinfektion, welche 1 Jahr und 2 Monate nach Beendigung seiner Immunisierung vollführt wurde, genas aber nach einer Krankheitsdauer von 2 Tagen. Er war also ebenfalls in hohem Grade giftfest. Sein Serum wurde am 18. Nov. 1907 mit demselben Virus gemischt, wie dasjenige der vorigen. Das aus dieser Mischung intramuskulär infizierte Meerschweinchen ging unter den typischen Erscheinungen der Wut nach 40, das eine der subdural geimpften Kaninchen nach 363 Tagen ein, das andere Kaninchen lebt noch Ende Juli 1909.

Die zwölfte Untersuchung wurde mit dem Serum eines solchen Hundes gemacht, welcher nach einer intramuskulären Infizierung mit Straßenvirus wutkrank wurde, aber nach einer Krankheitsdauer von 11 Tagen genas und einer 2 Monate später folgenden Probeinfektion widerstand. Sein Serum wurde am 18. Nov. 1907 mit demselben Straßenvirus gemischt, wie das der vorigen. Das aus dieser Mischung intramuskulär infizierte Meerschweinchen erlag nach 31, das eine der subdural geimpften Kaninchen nach 381, das andere nach 464 Tagen. In diesem Falle wollten wir sehen, ob das Virus während dieser langen Inkubation keine Veränderungen erlitten habe. Daher wurde aus dem Marke des Kaninchens, welches am 381. Tage zugrunde ging, ein Meerschweinchen intramuskulär und ein Kaninchen subdural infiziert. Das Meerschweinchen erkrankte am 21. Tag und ging nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden ein, das Kaninchen wurde am 57. Tage krank und ging innerhalb 24 Stunden ebenfalls zugrunde.

Aus dem Meerschweinchen wurde weiter geimpft, und zwar wurde ein Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural infiziert. Das Meerschweinchen erkrankte wieder am 21. Tag und ging nach 48 Stunden ein, das Kaninchen bekam die Wut am 68. Tag und erlag daran nach 48 Stunden.

Diese Weiterimpfungen beweisen also, daß das erwähnte Kaninchen

wirklich wutkrank war und daß das Virus im langen Kampfe mit dem tierischen Organismus ein wenig abgeschwächt wurde.

Die dreizehnte Untersuchung wurde mit dem Serum eines Hündchens gemacht, dessen Vater eine erworbene, die Mutter eine angeborene Immunität besaß. Die Mutter war das Hündchen No. III der ersten Serie. Dieses Tier widerstand, wie wir sahen, im Alter von 14 Wochen einer intramuskulären Probeinfektion mit fixem Virus, ja sogar einer subduralen mit Straßenvirus im Alter von 1 Jahr und 11 Tagen, auch im Alter von 2 Jahren und 21 Tagen zeigte es nach einer Infizierung mit 10 ccm Straßenvirus-Emulsion gar keine Erscheinungen. Die Mutter hatte also nicht nur eine angeborene, sondern auch eine erworbene Immunität. Das Serum des Jungen dieser Eltern wurde am 6. Juni 1908 mit Straßenvirus gemischt und 24 Stunden bei einer Temperatur von 17° C. gehalten. Die aus dieser Mischung intramuskulär infizierten Meerschweinchen gingen an einem Unfall vor der Zeit zugrunde, das subdural geimpfte Kaninchen erkrankte am 207. Tag und ging unter den typischen Erscheinungen der Wut innerhalb 24 Stunden zugrunde.

Die vierzehnte Untersuchung machten wir am 10. Sept. 1908, und zwar wurde das Straßenvirus mit dem Serum und mit einer Markemulsion eines gesunden Hundes gemischt. Das Verfahren war folgendes. Die aus dem verlängerten Marke des an Straßenvirus eingegangenen Hundes verfertigte Emulsion wurde durch einen sterilen Papierfilter filtriert, gleichfalls die Emulsion des Markes des gesunden Hundes. Dann wurden diese Emulsionen *à partes aequales* gemischt und 24 Stunden bei einer Temperatur von 20° C. gehalten und unterdessen öfters gut geschüttelt. Aus demselben Virus wurde 1,0 ccm mit 1 ccm Serum eines gesunden Hundes gemischt. Das mit den beiden Markemulsionen subdural infizierte Kaninchen erkrankte am 13. Tage und ging unter den typischen Erscheinungen der Wut in 48 Stunden zugrunde, das auf gleiche Weise geimpfte Meerschweinchen wurde am 20. Tag wütend und erlag nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden. Die zur Kontrolle mit dem reinen Virus intramuskulär infizierten Tiere: ein Hund und ein Meerschweinchen, gingen am 34. Tage nach der Infektion ein, hingegen blieben die mit dem gesunden Serum und Virusgemisch subdural infizierten Tiere: ein Meerschweinchen und ein Kaninchen, am Leben und zeigten am Ende Juli 1909 noch gar keine Erscheinungen.

Wie diese Untersuchungen beweisen, hat das Serum der mit Lyssaimmunität geborenen Tiere gar keine rabizide Wirkung. Zum selben Schluß kam auch Remlinger in seiner oben erwähnten Mitteilung, wo er auf p. 438 sagt: „le sérum de ces animaux (lapins nés de parents immunisés contre la rage) était incapable de neutraliser même le dixième de son volume d'une émulsion centésimale de virus fixe.“

Diese Untersuchungen beweisen aber auch, daß nicht nur das Serum der mit angeborener, sondern auch dasjenige der mit erworbener Immunität begabten Tiere ohne rabizide Wirkung ist. In diesem Punkte stimmen meine Erfahrungen mit denjenigen von Remlinger nicht zusammen, denn er fand, daß: „dans un cas le sérum de la mère neutralisait la moitié de son volume; dans un autre cas son volume de la même émulsion centésimale“.

Mit diesem kamen wir auf eine in der Lyssaliteratur sehr oft gewürdigte Frage, welche sich mit der rabiziden Wirkung des Serums von immunisierten und nichtimmunisierten Tieren beschäftigt. Die erste

diesbezügliche Beobachtung machte Babes noch im Jahre 1889. Babes beschäftigt sich aber mit der Serumtherapie der Lyssa in dieser Mitteilung und nicht mit der rabiziden Wirkung des Serums. Daher sollen jetzt nur einige Erfahrungen derjenigen erwähnt werden, die diese Wirkung des Serums „in vitro“ studierten. Nach Evangelista¹⁾ haben 8 ccm Serum von einem gesunden Hunde 0,5 ccm Virus fixe entgiftet, wenn die Mischung 25 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° C. gehalten wurde. Nach Gibier²⁾ hat das Serum der Tauben eine noch größere rabizide Wirkung, da es das Virus in 15 Stunden entgiftete.

Mit dieser Frage beschäftigten sich sehr eingehend Babes³⁾, Tizzoni mit Centanni³⁾ und mit Schwarz⁴⁾ in den Jahren 1891 bis 1895. Sie heben hervor, daß bei der Beurteilung der Resultate eine sehr große Rolle die Dosierung, die Quantität des Serums und des Virus, die miteinander gemischt werden, spielt. Sie mischten gewöhnlich verschiedene Mengen des Serums zum Virus und infizierten die Kaninchen subdural mit diesem Gemisch, das 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Sie konnten nachweisen, daß das Kaninchen-serum eine energischere rabizide Wirkung hat als das Hundeserum.

Nach Marie⁵⁾ hat das Blutserum der Vögel eine rabizide Wirkung, aber dasjenige des nichtimmunisierten Kaninchens und Hundes gar keine.

Kraus, Keller und Clairmont⁶⁾ fanden, daß normales Taubenserum und Taubengehirn keine rabiziden Eigenschaften gegenüber dem Lyssavirus zeigte, hingegen hatte das Serum des gesunden Huhnes eine starke rabizide Eigenschaft. Sie fanden auch, daß normales frisches Kaninchen-serum nicht imstande war, Virus fixe bei Zimmer- und Brüttemperatur zu vernichten, dagegen zerstörte das Serum immunisierter Kaninchen sowohl Virus fixe als auch Straßenvirus in vitro.

Kraus und Maresch⁷⁾ konnten in einer späteren Mitteilung nachweisen, daß die empfindlichen Kaninchen und Hunde in ihrem Serum keine rabiziden Substanzen besitzen, aber nach Immunisierung ein rabizides Immunserum geben. Die Tauben, die für Lyssa unempfindlich sind, besitzen normalerweise kein rabizides Serum und haben auch nach Immunisierung keine Immuns-substanzen im Blute. Hühner, die für das Lyssavirus wenig empfindlich sind, haben normalerweise im Serum rabizide Substanzen und produzieren nach Immunisierung keine solchen.

Kraus und Kreissl⁸⁾ untersuchten diese Frage auch mit Menschenblutserum und fanden, daß im Blutserum gesunder Menschen in der Regel keine Schutzstoffe nachzuweisen sind, und daß das Serum der Menschen sofort nach der Pasteurschen Schutzimpfung keine Schutzstoffe enthält. Am 22. Tage nach vollendeter Schutzimpfung lassen sich aber im Serum geimpfter Menschen sicher Schutzstoffe nachweisen, doch variieren sie bei verschiedenen Menschen in ihren Werten. Diese Schutzstoffe lassen sich auch längere Zeit nach der Schutzimpfung nachweisen.

1) 1a) 2) 3) 4) 5) siehe in der jetzt erschienenen Arbeit von Marie: *La rage expérimentale*. Paris 1909.

6) Kraus, Keller und Clairmont, Ueber das Verhalten des Lyssavirus im Zentralnervensystem empfindlicher, natürlich immuner und immunisierter Tiere. (*Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 41. 1902. p. 486. Ref. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I.* Ref. Bd. 33. 1903. p. 41.)

7) Kraus und Maresch, Ueber die Bildung von Immuns-substanzen gegen das Lyssavirus bei natürlich empfindlichen und unempfindlichen Tieren. (*Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 41. 1902. p. 527. Ref. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I.* Ref. Bd. 32. 1902. p. 688.)

8) Kraus und Kreissl, Ueber den Nachweis von Schutzstoffen gegen Hundswut beim Menschen. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 32. 1902. p. 810.)

Sie machten aber ihre Untersuchungen nur an Kaninchen und geben nicht an, wie lange die mit diesen Mischungen infizierten Tiere beobachtet wurden.

Diese Frage wird neuestens durch Kraus¹⁾ einer sehr eingehenden Behandlung unterworfen. Kraus kommt nach der Besprechung der diesbezüglichen Literatur und seinen eigenen Untersuchungen zum Schluß, daß „die Sera der lange Zeit immunisierten Tiere (Hammel, Hund, Pferd, Kaninchen) vermögen nicht nur Virus nach 24-stündiger Einwirkung, sondern auch nach ganz kurzem Zusammenmischen zu zerstören. In einzelnen Versuchen wurde auch unfiltriertes konzentriertes Virus zerstört.“

Wie die angeführten Angaben zeigen, konnten die Forscher einstimmig nachweisen, daß das Serum der immunen Tiere das Lyssavirus *in vitro* zerstört. Die meisten arbeiteten mit fixem Virus, ich aber mit Straßenvirus, aber Marie sagt auf p. 178 seiner oben erwähnten Arbeit, daß „un sérum exerce ses propriétés antirabiques aussi bien sur le virus des rues que sur le virus fixe.“ Meine Erfahrungen zeigten hingegen, daß das Serum der immunen Tiere niemals das Lyssavirus zerstört.

Was kann die Ursache dieses widersprechenden Resultates sein? Es kann das Virus selbst einen Anteil daran haben. Es wird auch bei Kraus (p. 616) hervorgehoben, daß das Straßenvirus sich als Testobjekt nicht eignet, weil seine Virulenz großen Schwankungen unterworfen ist. Aber nach Marie ist auch das Straßenvirus geeignet.

Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens kann auch in den Quantitätsverschiedenheiten sein, da manche Forscher größere Mengen Serum zum Virus mischten und ich immer mit *àà parties égales* arbeitete. Aber auch bei Kraus finden wir solche Untersuchungen, in denen 0,1, ja sogar 0,05–0,01 ccm Serum 1 ccm Virus zerstörten.

Meiner Meinung nach liegt die Ursache darin, daß die Forscher ihre Tiere nicht längere Zeit in Beobachtung hielten, sondern sie begnügten sich mit der Angabe „überlebt“. Kraus erwähnt zwar auf p. 617 seiner Monographie, daß die größten Serumverdünnungen in einzelnen Fällen das Virus nicht zerstörten, wohl aber abgeschwächt haben dürfen, da der Tod der Tiere an Lyssa verspätet nach 20 Tagen und noch später eintrat, gibt aber nicht an, wie lange die Beobachtung dauerte. Dies ist aber nach meinen schon früher mitgeteilten Untersuchungen²⁾ von sehr großer Bedeutung, besonders, wenn man mit Kaninchen experimentiert, welche manchmal erst nach vielen Monaten oder nach Jahren zugrunde gehen.

Ich glaube, daß, wenn die Forscher ihre infizierten Tiere längere Zeit beobachtet hätten, so wären sie auch auf diesen Schluß gekommen, daß das Serum der immunen Tiere keine rabizide Wirkung hat³⁾.

1) Kraus. Lyssaimmunität. (Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1909. p. 612–622.)

2) Konrádi, Beitrag zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35.) — Weitere Untersuchungen zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa. (Ibid. Bd. 38.)

3) Anmerkung bei der Korrektur: Zum selben Schluß kamen Baroni, Ciuca, M et Tonescu, Mihiaesti, Recherches sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum les extraits d'organes d'animaux vaccinés contre la rage. (Ref. Weichardt, Jahresber. üb. d. Ergebn. d. Immunitätsforsch. Bd. 4. 1909. p. 174.)

Praktische Schlüsse.

In meiner ersten diesbezüglichen Mitteilung hatte ich schon erwähnt, daß ich besonders den Vorschlag von v. Högyes und von Tizzoni und Centanni vor Augen hielt, daß es vielleicht mit der Zeit gelingt, durch Erziehung von Hunderassen, welche gegen Rabies immun sind, die Lyssa der Hunde und damit die Hauptquelle der Uebertragung dieser Krankheit auf den Menschen auszurotten. Meine Untersuchungen zeigen aber, daß dies nicht gelingt, da die Enkel keine Immunität vererben, auch dann nicht, wenn der Vater eine aktive Immunität besaß. Die Vererbung der Immunität geschieht nur bis zur ersten Generation. Aber in der ersten Generation ist sie viellänger, als man es bis jetzt nach der Meinung von Ehrlich und seinen Nachfolgern hielt. Es ist sogar in praktischer Hinsicht sehr ratsam, die Muttertiere zu immunisieren, und zwar nicht nur während der Schwangerschaft, wo schwere Gesundheitsstörungen mit Abortus oder sogar Tod die Folge sein kann, sondern auch eine geraume Zeit vor der Konzeption, weil eine immunisierte Mutter in den aufeinanderfolgenden Schwangerschaften immer immune Nachkommen hat. Diese Erfahrung ist besonders aus ökonomischen Gründen beim Ausbruch von Tierseuchen praktisch zu verwerten, wenn wir durch Immunisierung der Muttertiere immune Nachkommen bekommen können. Neuestens hat Sande¹⁾ solche Untersuchungen an 215 hochtragenden Kühen durchgeführt, welche mit einem Kälberruhrbacillenextrakt immunisiert wurden. Diese Impfungen ergaben, daß 91,63 Proz. Kälber von der Ruhr verschont blieben, 6,04 Proz. an ihr fielen, die restlichen 2,33 Proz. zeigten Durchfall, der aber durch Injektion von 20 ccm Serum sofort verschwand.

Nach Sande darf in dem letzten Monat der Tragezeit keine Impfung vorgenommen werden, weil sonst neben schweren Erkrankungen der Kühe Abortus oder der Tod der Muttertiere eintreten kann. Um sich von solchen Unannehmlichkeiten zu hüten, empfehle ich, wenn es erlaubt ist, von einer Krankheit auf eine andere zu folgern, die Immunisierung der Muttertiere vor der Konzeption durchzuführen, da dies bei der Lyssa von großem Nutzen ist.

Zusammenfassung.

- 1) Die Lyssaimmunität ist vererbbar.
- 2) Bei der Vererbung der Lyssaimmunität kommt dem Vater kaum eine Rolle zu, nur die Mutter ist imstande die Immunität zu übertragen, und zwar nicht nur dann, wenn ihre Immunisierung während der Schwangerschaft vollführt wurde, sondern auch, wenn sie vor der Konzeption immunisiert worden war.
- 3) Die Uebertragungsfähigkeit der Lyssaimmunität scheint sich während den aufeinanderfolgenden Schwangerschaften zu verstärken.
- 4) Die Vererbung der Lyssaimmunität geschieht nur bis zur ersten Generation, in den Enkeln ist sie ganz verschwunden.

1) Sande, Die aktive Immunisierung hochtragender Kühe mit einem Kälberruhrbacillenextrakt zwecks Erreichung einer Immunität der Kälber gegen Ruhr vor der Geburt. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. No. 14.)

5) In der Vererbung der Lyssaimmunität zeigen die Nachkommen individuelle Verschiedenheiten. manche vererben dieselbe, andere nicht.

6) Die angeborene und die erworbene Lyssaimmunität dauert viel länger, als dies bis jetzt nach den Untersuchungen von Ehrlich gehalten wurde.

7) Das Blutserum der Tiere mit angeborener und erworbener Immunität hat gar kein rabizides Vermögen auf das Straßenvirus.

8) Bei diesbezüglichen Untersuchungen ist immer anzugeben, wie lange die Beobachtungszeit der infizierten Tiere dauerte, sonst kommt man sehr leicht zu Fehlschlüssen.

9) Die Immunisierung vor der Konzeption ist aus ökonomischen Gründen für die Nachkommenschaft sehr ratsam und kann von großem Nutzen sein.

Nachdruck verboten.

Du pouvoir auxilytique du sérum de cobaye normal

[Institut Pasteur du Brabant, Bruxelles.]

Par le Dr. O. Gengou.

La dissolution d'un globule rouge par un immunsérum résulte, comme on le sait, du concours de deux substances: l'alexine, substance normale, et la sensibilisatrice, acquise par l'animal au cours de l'immunisation (Bordet). Divers sérums normaux renferment aussi des sensibilisatrices actives contre certains globules. Pour Bordet, la sensibilisatrice agit en mordant les hématies, qui deviennent ainsi beaucoup plus aptes à absorber l'alexine. Pour Ehrlich et Morgenroth, la sensibilisatrice — que ces auteurs appellent amboceptor ou Zwischenkörper — sert de trait d'union entre le globule et l'alexine (complément), se fixant au premier par son groupe cytophile et à la seconde par son groupe complémentophile.

En 1902, Ehrlich et Sachs¹⁾ observèrent un fait qui leur parut être la démonstration de cette idée. Si on mélange à des globules lavés de cobaye, du sérum de bœuf normal, chauffé à 55°, et de l'alexine de cheval, les globules se dissolvent; l'hémolyse fait, au contraire, défaut en l'absence de sérum de bœuf 55°. Aussi ce dernier intervient-il simplement, d'après Ehrlich et Sachs, en apportant la sensibilisatrice nécessaire à l'action de l'alexine de cheval. Mais toute sensibilisatrice se fixe, même en l'absence d'alexine, sur l'élément qu'elle impressionne spécifiquement. Cependant, si on traite des globules de cobaye par du sérum de bœuf 55°, puis qu'après lavage on les met au contact d'alexine de cheval, ils ne se dissolvent pas. Ehrlich et Sachs pensèrent que dans ce cas, contrairement à la règle générale, la sensibilisatrice du sérum de bœuf 55° ne se fixe pas sur les globules en l'absence d'alexine de cheval et que la présence de celle-ci augmente considérablement l'affinité de la sensibilisatrice pour les hématies. Ils admisent même que la sensibilisatrice ne s'unit au globule qu'après s'être combinée à l'alexine.

1) Ehrlich et Sachs, Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 21.

Bordet et Gay¹⁾ ont montré qu'il n'en est rien: la sensibilisatrice du sérum de bœuf normal se fixe sur les globules de cobaye, même en l'absence d'alexine de cheval; si l'alexine de cheval ne dissout pas des globules de cobaye lavés après contact avec le sérum de bœuf 55° (expérience d'Ehrlich et Sachs), cela tient à certaines particularités de cette alexine. Celle-ci, en effet, peut hémolyser divers globules sensibilisés (de lapin, p. ex.); mais il en est (chèvre, bœuf, cobaye) qu'elle ne peut dissoudre, même s'ils ont sensibilisés. Si elle est capable d'hémolyser ces derniers en présence de sérum chauffé de bœuf, c'est grâce à l'existence dans celui-ci, d'une substance qui ne se fixe pas sur les globules neufs et que l'on ne peut par conséquent considérer comme une sensibilisatrice.

Manwaring²⁾, Sachs et Bauer³⁾ ont vu que le sérum de chèvre chauffé a aussi le pouvoir de renforcer l'hémolyse par l'alexine. C'est cette propriété, que Manwaring a appelée pouvoir auxilytique, nom que l'on peut, croyons-nous, conserver à la faculté qu'ont les sérums de chèvre et de bœuf de favoriser ou même de provoquer l'hémolyse par une alexine et qu'ils doivent à des substances n'ayant pas les caractères des sensibilisatrices.

Bordet et Gay ont aussi constaté qu'avant de se dissoudre en présence de sérum frais de cheval et de sérum chauffé de bœuf, les globules de cobaye s'agglomèrent en très gros amas, alors que chacun de ces deux sérums, employés séparément, ne les agglutine que très faiblement et très lentement. De même, si on charge d'alexine des globules sensibilisés de cobaye par contact avec du sérum frais de cheval, puis qu'après lavage, on les traite par du sérum chauffé de bœuf, ils s'agglomèrent — mais sans s'hémolyser — en très volumineux paquets. La substance du sérum de bœuf qui provoque cet accollement des hématies a été désignée par Bordet et Gay sous le nom de colloïde de bœuf, par Bordet et Streng⁴⁾ sous le nom de conglutinine. Ils ont montré qu'elle n'est pas fixée par les globules neufs ou sensibilisés, mais qu'elle l'est si ceux-ci sont en outre chargés d'alexine, le sérum de bœuf pouvant agir sur les globules soit en même temps que cette dernière, soit après sa fixation.

Peut-être n'est-ce pas à la même substance que le sérum de bœuf doit son pouvoir auxilytique et sa propriété conglutinante. Si on dialyse du sérum de bœuf chauffé à 56°, en présence d'eau distillée, l'auxilysine reste dans le liquide, tandis que la conglutinine passe dans le précipité de globulines (Bordet et Streng). Mais ces auteurs n'ont pas cherché à séparer d'une façon certaine les deux propriétés spéciales du sérum de bœuf.

D'après Streng⁵⁾, le sérum des ruminants est, en général, conglutinant pour le globule de cobaye sensibilisé et chargé d'alexine de cheval; cependant le sérum de chèvre ne l'est pas, tout en étant auxilytique. Streng n'a pas trouvé de propriété conglutinante au sérum de chien, de pigeon, de chat. Il a observé que le sérum de cobaye

1) Bordet et Gay, Annales Instit. Pasteur. 1906.

2) Manwaring, Centralbl. f. Bakteriologie. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 455 u. Bd. 45 p. 55.

3) Sachs et Bauer, Arb. a. d. Kgl. Instit. f. experim. Therapie. 1907.

4) Bordet et Streng, Centralbl. f. Bakteriologie. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49.

5) Streng, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Therapie. Bd. 2.

chauffé à 55° congutine souvent nettement, souvent aussi très faiblement, parfois pas du tout les globules de cobaye.

Nos expériences nous ont montré que toujours le sérum de cobaye est extrêmement auxilytique. En lieu d'employer, comme Streng, des globules de cobaye sensibilisés par du sérum normal de cheval, nous nous sommes servi très généralement de globules de chèvre sensibilisés par de l'immunsérum de lapin-antichèvre¹⁾.

Le tableau suivant montre l'énergie de l'auxilysine du sérum chauffé de cobaye, énergie qui est toujours à peu près la même chez divers cobayes²⁾.

Eau physio- logique	Sérum de cheval frais	Sér. de cob. neuf 55°	Glob. de chèvre sensib.	Résultat après 30' à 37°
0,85 c. c.	0,15 c. c.	0,02 c. c.	1 goutte	Hém. complète
0,85 "	0,15 "	0,015 "	"	"
0,85 "	0,15 "	0,01 "	"	" très nette
0,85 "	0,15 "	0,005 "	"	" assez faible
0,85 "	0,15 "	—	"	" nulle

Il va de soi que nous nous sommes assuré que l'alexine de cheval est bien, dans ces mélanges, l'agent hémolytique. Chauffé à 55°, ou épuisé de son alexine par des globules de chèvre sensibilisés ou des vibrions sensibilisés, le sérum de cheval n'est plus hémolytique en présence du sérum de cobaye chauffé.

Divers faits prouvent que l'action auxilytique du sérum de cobaye n'est pas due à une sensibilisatrice normale: outre que le sérum chauffé de cobaye est incapable de faire hémolyser, à quelque dose qu'on l'emploie, des globules de chèvre neufs par l'alexine de cheval, son auxilysine, ainsi qu'on le verra plus loin, ne se fixe pas sur de tels globules. D'autre part, il peut arriver que de fortes doses de sérum de cobaye ne déterminent pas l'hémolyse de globules de chèvre sensibilisés, alors que de faibles doses de ce sérum la provoquent, ce que l'on n'observe pas, comme on sait, avec les sensibilisatrices normales.

Exemple:

Eau physio- logique	Sérum frais de cheval	Sér. de cob. neuf 55°	Glob. de chèvre sensib.	Résultat après 30' à 37°
0,85 c. c.	0,05 c. c.	0,4 c. c.	1 goutte	Hém. nulle
0,85 "	0,05 "	0,2 "	"	" nette
0,85 "	0,05 "	0,1 "	"	" complète
0,85 "	0,05 "	—	"	" nulle

Le fait que nous nous sommes servi principalement de globules de chèvre fortement sensibilisés par un sérum spécifique oblige d'autre part à écarter tout rapprochement entre l'auxilysine du sérum de cobaye neuf et les sensibilisatrices normales; on ne peut supposer que des traces d'un sérum normal contiennent une sensibilisatrice plus puissante que de fortes doses d'un immunsérum spécifique.

Du reste, le sérum chauffé de cobaye peut rendre le sérum frais de cheval hémolytique non seulement pour des globules de chèvre sensibi-

1) La sensibilisation des globules de chèvre a toujours été obtenue par mélange d'un volume de sérum de lapin-antichèvre 55° à un volume de globules de chèvre lavés.

2) L'hémolyse se fait d'autant mieux que le contact préalable des globules avec le sérum sensibilisateur a été plus long.

lisés, mais aussi pour des globules de cobaye, à la condition d'employer une assez forte dose d'alexine¹⁾).

Example:

Eau physiologique	Sérum de cheval frais	Sérum de cob. neuf 55°	Glob. de cobaye	Résultat après 30' à 37°
0,4 c. c.	0,3 c. c.	0,3 c. c.	1 goutte	Hém. presq. compl.
0,5 "	0,3 "	0,2 "	"	" " "
0,6 "	0,3 "	0,1 "	"	" très nette
0,65 "	0,3 "	0,05 "	"	" assez faible
0,675 c. c.	0,3 "	0,025 "	"	" très faible
0,7 c. c.	0,3 "	—	"	" nulle

L'étude de l'épuisement de l'auxilysine de cobaye par les globules montre, d'autre part, que cette substance se comporte bien comme celle du bœuf. Bordet et Streng ont observé qu'au contact d'une dose suffisante de globules de cobaye préalablement traités par l'alexine de cheval, le sérum de bœuf perd son pouvoir auxilytique et conglutinant. Il conserve au contraire ces propriétés, si on le met au contact soit de globules de cobaye neufs, soit de globules de cobaye sensibilisés par du sérum normal de cheval chauffé à 55°. En d'autres termes, la substance auxilytique du sérum de bœuf n'est absorbée par les globules que si ceux-ci sont alexinés.

Il en est de même de l'auxilysine du sérum de cobaye. Nous avons traité ce sérum soit par des globules de chèvre neufs, soit par des globules de chèvre sensibilisés; dans ces cas, il garde son action auxilytique. Il la perd au contraire plus ou moins complètement, s'il est mis en contact de globules de chèvre sensibilisés et alexinés par du sérum de cheval frais, que ce dernier soit ou non, après l'action de l'alexine, éloigné des globules par centrifugation et lavage de ceux-ci.

Expérience: On centrifuge les 4 tubes suivants:

A: 23 gouttes de globules de chèvre sensibilisés.

B: 23 " " " " , préalablement mis en contact pendant une heure, à la température ordinaire, avec 6,9 c. c. de sérum frais de cheval et 16,1 c. c. d'eau physiologique.

C: 23 gouttes de globules de chèvre sensibilisés.

D: 23 " " " " " neufs.

On lave les sédiments de globules ainsi obtenus, puis on ajoute respectivement:

A': 0,4 c. c. de sérum de cobaye neuf 55^b + 5,2 c. c. d'eau physiologique
+ 2,4 c. c. d'alexine de cheval.

B': 0,4 c. c. de sérum de cobaye neuf 55° + 7,6 c. c. d'eau physiologique.

 $\underline{C'}:$ 0,4 " " " " " " 55° + 7,6 " " "

D': 0,4	"	"	"	"	"	"	55° + 7,6	"	"	"
---------	---	---	---	---	---	---	-----------	---	---	---

On fait en outre le tube témoin E': 0,4 c. c. de sérum de cobaye
neuf 55° + 5,2 c. c. d'eau physiologique + 2,4 c. c. d'alexine de cheval.

Après une heure à 37°, on centrifuge A', B', C', D'; on en verse les liquides sur de nouveaux sédiments de globules respectivement identiques à ceux des tubes A, B, C et D. On centrifuge de nouveau après une heure et les liquides décantés sont, ainsi que E', chauffés 30 minutes à 55° pour détruire l'alexine qu'ils pourraient encore contenir. On établit ensuite la puissance auxilytique de ces divers liquides. On introduit dans une série de tubes une dose uniforme d'alexine de cheval (0,3 c.c.) et de globules sensibilisés de chèvre (1 gtte). On ajoute ensuite aux

1) Le sérum de cheval contient une sensibilisatrice normale pour les globules de cobaye (Bordet et Gay); on peut donc se dispenser de sensibiliser ceux-ci par un immunosérum spécifique.

différents tubes d'une même série des doses décroissantes des liquides A, B etc. et des quantités croissantes d'eau physiologique, de façon à porter partout le volume à 1,5 c. c. Le tableau suivant indique les résultats obtenus après 1 heure à 37°.

Liquides	Doses de liquides employées				
	1,5 c. c.	1 c. c.	0,75 c. c.	0,5 c. c.	0,25. c. c.
A	Hém. ass. faible	Hém. faible	Traces d'hémol.	Hém. nulle	Hém. nulle
B	" nette	" "	Hém. très faible	Traces d'hém.	" "
C	" compl.	" compl.	H. presq. compl.	Hém. faible	" "
D	" "	" "	" "	" "	" "
E	" "	" "	" "	" "	" "

De même, le sérum de cobaye frais (contenant par conséquent alexine et auxilysine), perd en même temps son alexine et son auxilysine, lorsqu'il est mis en présence d'un excès de globules sensibilisés.

Expérience: On centrifuge les deux tubes suivants:

F: 23 gouttes de globules de chèvre sensibilisés.

G: 23 " " " " " non sensibilisés.

On verse sur le culot de globules de chaque tube 0,45 c.c. de sérum frais de cobaye et 8,55 c.c. d'eau physiologique. On fait un 3^e tube, H, contenant les mêmes liquides, mais pas de globules. On place les 3 tubes une heure à 37°, puis on centrifuge F et G et les liquides de ces tubes sont passés sur deux culots de globules respectivement constitués comme F et G. Après un nouveau contact d'une heure à 37°, on centrifuge et on chauffe à 55° une partie des liquides F, G et H. Le reste de ces liquides, non chauffé, permet de constater que G et H ont le même pouvoir alexique, tandis que F en est complètement privé. On établit ensuite la valeur auxilytique des liquides chauffés, en procédant comme dans l'expérience rapportée dans le tableau précédent; voici les résultats obtenus:

Liquides	Doses de liquide employées		
	1,1 c. c.	0,65 c. c.	0,45 c. c.
F	Hém. nulle	Hém. nulle	Hém. nulle
G	H. presq. compl.	" nette	" assez nette
H	" " "	" "	" " "

Ainsi que nous l'avons rappelé plus haut, Bordet et Streng ont vu que, lors de la dialyse du sérum de bœuf 55°, le pouvoir congelant du sérum se retrouve dans le précipité de globulines, tandis que la partie liquide conserve l'auxilysine. De même, si on dialyse du sérum de cobaye 55° ou si on fait passer un courant d'acide carbonique dans ce sérum, dilué au préalable de 8 volumes d'eau distillée, c'est dans la partie liquide, séparée du précipité de globulines, qu'on retrouve le pouvoir auxilytique.

En résumé, le sérum de cobaye se comporte, au point de vue auxilytique, comme le sérum de bœuf. Nous avons cru bon de signaler cette propriété du sérum de cobaye, parce que cet exemple montre qu'on peut l'observer chez des animaux fort différents des ruminants, et parce qu'il nous a permis d'établir certains des caractères de l'auxilysine.

Tandis que le sérum de bœuf 55° congélute les globules sensibilisés traités par l'alexine de cheval, le sérum de cobaye n'a pas, d'après nos

recherches, d'action semblable sur des globules de cobaye ou de chèvre sensibilisés¹⁾). Ce fait ne plaide évidemment pas en faveur de l'identité des substances qui confèrent aux sérums de divers ruminants, leur propriété congulinante et leur pouvoir auxilytique.

Il semble que le plasma du sang circulant dans les vaisseaux soit également auxilytique chez le cobaye; en effet, du plasma recueilli soit dans des tubes paraffinés, soit dans une solution d'oxalate alcalin, se montre, quand on l'a fait coaguler par un moyen approprié, aussi auxilytique que le sérum du même cobaye.

La même propriété s'observe aussi dans le liquide péritonéal du cobaye normal, souvent moins marquée cependant que dans le sérum sanguin. De même, l'auxilysine passe, mais faiblement, dans le liquide d'œdème obtenu par la ligature en masse d'une patte; ce liquide est en effet de 5 à 10 fois moins actif que le sérum du même animal.

Elle existe aussi dans le sérum de cobayes très jeunes; nous avons en effet obtenu un résultat positif avec le sérum de 2 cobayes, âgés d'un jour; le sérum de la mère était seulement un peu plus actif que celui des petits. Streng²⁾ a constaté d'autre part que, dans l'espèce bovine, le pouvoir congulinant du sérum est aussi plus faible chez l'animal jeune que chez l'adulte.

Divers auteurs ont, comme on sait, montré que l'addition d'eau distillée au sérum de cobaye frais détruit le pouvoir alexique de ce dernier; à ce que nous avons vu, l'auxilysine persiste, au contraire, dans du sérum de cobaye frais ainsi traité.

Elle ne provoque l'hémolyse des globules de chèvre ni par le venin de cobra, ni par la lécithine.

Elle ne passe pas à travers le collodion, si on dialyse le sérum en présence d'eau physiologique.

Chauffé à 70° pendant 30 minutes, le sérum de cobaye perd toute action auxilytique. Au contraire, cette action persiste assez bien dans du sérum soumis à une dessiccation prolongée pendant 2 jours. Si on traite ce sérum desséché par divers liquides, tels que les alcools méthylique et éthylique, l'acétone, l'éther sulfurique, le chloroforme, on ne retrouve dans aucun des extraits le pouvoir auxilytique du sérum sec. D'autre part, le résidu du sérum traité par ces liquides, broyé dans de l'eau physiologique, ne confère à celle-ci aucun pouvoir auxilytique. Il semble donc que ce pouvoir doive être attribué à une substance albuminoïde ou à un corps qui est inactivé par l'intervention des coagulants des matières protéiques.

Bordet et Streng ont signalé que la puissance hémolytique d'un mélange de sérum chauffé de bœuf et de sérum frais de cheval s'atténue progressivement. Si le mélange contient une forte dose du premier (1 c.c.) pour une faible quantité (0,2 c.c.) du second, l'affaiblissement du mélange peut s'observer déjà après 10 ou 15 minutes. Nous n'avons pas constaté de fait semblable avec des mélanges de sérum chauffé de cobaye et d'alexine de cheval. Préparons deux mélanges, A et B, de telle

1) Nous avons cependant constaté que des globules de chèvre, sensibilisés par un sérum de lapin-antichèvre très peu agglutinant, s'agglomèrent fortement à la longue, si on les traite par de petites doses de sérum de cobaye neuf 55°, bien que ce dernier soit dépourvu par lui-même d'une action semblable sur des globules neufs de chèvre. On ne peut dire qu'il s'agit là de congulation, puisque ce mot est réservé, comme on sait, aux phénomènes d'agglutination qui nécessitent le concours d'une alexine.

2) Streng, Centralbl. f. Bakteriologie, etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. H. 1.

sorte que 1 c. c. de chacun d'eux soit capable d'hémolyser en 30 minutes à 37° une goutte de globules sensibilisés de chèvre. A contient, par cent. cube, 0,1 c. c. de sérum chauffé de cobaye et 0,3 c. c. d'alexine de cheval; B, 0,3 c. c. de sérum chauffé de cobaye et 0,075 c. c. d'alexine de cheval. Même après un séjour de 4½ heures à 37°, ces deux mélanges ont conservé toute leur puissance hémolytique.

De leurs expériences sur le vieillissement des mélanges de sérum chauffé de bœuf et d'alexine de cheval, Bordet et Streng ont conclu „qu'une réaction intervient entre cette dernière et la congulinine“. Il ne faudrait pas déduire de la nôtre qu'aucune réaction ne se produit entre l'alexine de cheval et l'auxilysine de cobaye. Voici en effet une expérience qui paraît indiquer l'existence d'une réaction entre ces deux substances:

Ayant constaté antérieurement que le sulfate de baryum épuise aisément du sérum frais de cobaye de son pouvoir alexique, nous avons recherché si cette substance peut aussi priver du sérum chauffé de cobaye de son auxilysine. On met donc en présence d'une certaine quantité de BaSO_4 en suspension dans l'eau physiologique, un volume de sérum chauffé de cobaye égal à huit fois la dose minimale (0,015 c. c.) de ce sérum, capable de provoquer la dissolution d'une goutte de globules sensibilisés de chèvre par 0,1 c. c. d'alexine de cheval. Le mélange comprend donc: le culot de BaSO_4 obtenu par la centrifugation de 40 gouttes d'une émulsion de cette poudre dans l'eau physiologique + 1,8 c. c. d'eau physiologique + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cobaye dilué au $\frac{1}{10}$ °. On centrifuge après un contact de 30 minutes; or le liquide surnageant, même à la dose de 1 c. c. — volume qui contenait primitivement 4 fois la dose minimale active de sérum chauffé de cobaye — se montre pour-ainsi-dire entièrement dépourvu de tout pouvoir auxilytique.

Que va-t-il survenir si l'on traite l'auxilysine de cobaye par BaSO_4 , en présence de sérum de cheval? On doit remarquer tout d'abord que BaSO_4 n'absorbe qu'incomplètement l'alexine de cheval. On met, par exemple, dans 4 tubes, en présence du culot obtenu par centrifugation de 10 (A), 15 (B), 22 (C), 30 (D) gouttes de l'émulsion de BaSO_4 , 0,6 c. c. d'eau physiologique + 0,4 c. c. d'alexine de cheval. Après 30 minutes on centrifuge; chacun des liquides ainsi obtenus, additionné de 0,015 c. c. de sérum chauffé de cobaye et d'une goutte de globules sensibilisés de chèvre, dissout encore ceux-ci faiblement, alors que 0,1 c. c. d'alexine de cheval détermine, dans les mêmes conditions, une hémolyse complète. Si l'absorption de l'alexine de cheval par BaSO_4 est incomplète, c'est vraisemblablement parce que cette alexine n'agissant qu'à dose assez forte, on doit mettre en présence de BaSO_4 outre l'alexine, une notable quantité d'albuminoïdes. Nous avons montré¹⁾ combien les colloïdes stables, tels que les albuminoïdes, facilement absorbables par une poudre, diminuent le pouvoir absorbant de celle-ci pour une autre substance.

Cela étant, mettons en présence de BaSO_4 à la fois du sérum chauffé de cobaye et du sérum de cheval, soit alexique, soit chauffé à 55°:

- A: Culot de 40 gouttes BaSO_4 + 0,6 c. c. d'eau phys. + 1,2 c. c. d'alexine de cheval + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cobaye, dilué au $\frac{1}{10}$ °.
 B: Culot de 40 gouttes BaSO_4 + 0,5 c. c. d'eau phys. + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cheval + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cobaye, dilué au $\frac{1}{10}$ °.

1) Gengou, Arch. internat. de physiologie. T. 7. 1908.

O: 0,5 c. c. d'eau physiologique + 1,2 c. c. d'alexine de cheval + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cobaye, dilué au $\frac{1}{10}$.

D: 0,5 c. c. d'eau physiologique + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cheval + 1,2 c. c. de sérum chauffé de cobaye, dilué au $\frac{1}{10}$.

Après 30 minutes, on centrifuge et on chauffe les liquides décantés pendant une demi-heure à 55°. L'alexine restante étant ainsi détruite, on établit la valeur auxilytique de chaque liquide.

Liquides expérimentés	Eau physiologique	Alexine de cheval	Glob. sensibil. de chèvre	Résultat après 50' à 37°
A. 1 c. c.	—	0,1 c. c.	1 goutte	Hém. faible
0,75 c. c.	0,25 c. c.	"	"	" "
0,375 "	0,625 "	"	"	" traces
B. 1 c. c.	—	"	"	" complète
0,75 c. c.	0,25 c. c.	"	"	" nette
0,375 "	0,625 "	"	"	" assez nette
C. 1 c. c.	—	"	"	" complète
0,75 c. c.	0,25 c. c.	"	"	" nette
0,375 "	0,525 "	"	"	" assez nette
D. 1 c. c.	—	"	"	" complète
0,75 c. c.	0,25 c. c.	"	"	" nette
0,375 "	0,525 "	"	"	" assez nette

On voit qu'en présence des albuminoïdes du sérum chauffé de cheval (B), l'auxilysine n'est pas fixée par BaSO_4 , alors que celui-ci l'absorbe en l'absence de sérum (voir plus haut). Si le sérum de cheval n'a pas été chauffé (A), BaSO_4 entraîne au contraire l'auxilysine, malgré la présence des albuminoïdes du sérum de cheval. On doit admettre que cette absorption résulte dans ce cas de ce que, l'auxilysine ayant réagi avec l'alexine, la première est entraînée par BaSO_4 en même temps que la seconde, qui, elle, est absorbée (voir ci-dessus) par BaSO_4 , tout au moins en grande partie, malgré les albuminoïdes qui l'accompagnent.

Le nature de la réaction qui se passe entre l'alexine de cheval et l'auxilysine nous est inconnue. On peut dire cependant qu'il ne s'agit vraisemblablement pas d'un simple renforcement de l'alexine, car ce renforcement s'exercerait, quel qu'élément sensibilisé que l'on mette au contact de cette alexine. Or, ce n'est pas le cas. En effet, si l'alexine de cheval ne dissout pas les globules de chèvre ou de bœuf sensibilisés, elle transforme très bien le vibrion cholérique sensibilisé en granules de Pfeiffer; si on emploie une dose d'alexine de cheval un peu trop faible pour déterminer ce phénomène, l'addition de sérum chauffé de cobaye ne le produit pas davantage.

En résumé, on peut dire que le sérum chauffé de cobaye a le pouvoir de provoquer l'hémolyse par l'alexine de cheval de certains globules qui, même sensibilisés, ne sont pas dissous par celle-ci. Cette propriété est liée à une substance qui paraît exister déjà dans le plasma sanguin du cobaye, qui s'observe en quantité un peu moindre dans le liquide péritonéal normal, et passe à très petite dose dans le liquide d'œdème. On la rencontre aussi dans le sérum de l'animal jeune.

Il est probable que cette substance du sérum de cobaye (auxilysine) est de nature protéique. Elle entre en réaction avec l'alexine de cheval, mais la nature de cette réaction nous est inconnue. C'est vraisemblablement à la faveur de cette union, que l'auxilysine est absorbée par des globules sensibilisés.

Nachdruck verboten.

Agglutinin oder Konglutinin?

Von Dr. Osw. Streng, Helsingfors.

In Abt. I. Orig. Bd. 50 des Centralbl. f. Bakteriöl. habe ich einige Versuche mitgeteilt, die mich veranlaßten, der Ausflockung mehrerer Mikroben durch frisches Rinderserum eine andere Deutung als die gewöhnliche zu geben. Um eine Verwechslung mit der Agglutination zu vermeiden, schlug ich, entsprechend dem Vorschlage von Bordet und Streng¹⁾, die mit Blutkörperchen arbeiteten, auch für diese besondere Ausflockung der Mikroben den Namen Konglutination vor. Ich zeigte, daß bei der Konglutination nicht die Agglutinine, sondern besondere, mit den Agglutininen nicht zu verwechselnde Stoffe — Konglutinine — in Aktion treten. Die Konglutinine wirken nur unter der Bedingung, daß die Mikroben vorher sensibilisiert und alexiniert worden sind. Native Mikroben binden diese Stoffe nicht, während, wie man weiß, die Agglutinine sich direkt mit den nativen Mikroben verbinden. Ich konnte die Konglutinine in Serum, woraus die Agglutinine entfernt waren, nachweisen, und zeigte auch, daß die Agglutinine und Konglutinine durch Dialyse getrennt werden können.

Die Konglutinine sind nicht, wie die Agglutinine, spezifisch, aber die durch dieselben hervorgerufene Ausflockung — die Konglutination — ist spezifisch, weil die Alexinbindung, welche eine spezifische Sensibilisierung voraussetzt, eine Vorbedingung der Konglutination ist. Ich zeigte, daß die Konglutination als eine spezifische Serumreaktion zu benutzen und weiter, daß z. B. *B. coli*, *B. typhi* und die Pertussis-Mikrobe von Bordet dadurch voneinander differenziert werden können. Später hat Cohen²⁾ die Konglutinationsreaktion benutzt und mit Hilfe derselben die verschiedenen Erreger der cerebrospinalen Meningitis voneinander differenziert, während er mit Hilfe der Agglutination und Agglutinine dieses Resultat nicht erreichen konnte.

Weiter habe ich³⁾ gezeigt, daß Konglutinine auch in anderen Sera als in Rinderserum vorkommen.

Vor kurzem hat Bail⁴⁾ die Schlüsse, die ich aus meinen Versuchen gezogen hatte, als teilweise unbegründet erklärt, und behauptet, daß die von mir als Konglutination bezeichnete Reaktion als gleichzeitige Bakteriolyse und Agglutination zu betrachten wäre. Dabei gibt Bail, der einige von meinen Versuchen wiederholt und richtig befunden hat, zu, daß diese spezielle Ausflockung ein komplexer Prozeß ist, für den das Alexin nötig ist, und der bei Ausschaltung des Alexins unterbleibt. Bail, der eigentlich nur einen Teil meiner Versuche berücksichtigt⁵⁾, glaubt, daß man keine besonderen Stoffe — Konglutinine — annehmen muß, um diese Ausflockung zu erklären. Bail ist weiter der Ansicht, daß diese Ausflockung sich nicht prinzipiell von der gewöhnlichen Agglutination unterscheidet, da, wie er meint, jede Agglutination eine

1) Bordet u. Streng, Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.

2) Cohen, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1909.

3) Streng, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1909.

4) Bail, Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909.

5) Auf die anderen verspricht er zurückzukommen.

komplexe Reaktion sei und bei jeder Agglutination das Alexin notwendig wäre.

Ohne hier in diesem Zusammenhange auf die Hypothese Bails, daß jedes Agglutinin komplexer Natur wäre, in allen Einzelheiten einzugehen, will ich doch einige Bemerkungen gegen diese Bailsche Theorie machen.

Beim Aufstellen seiner Theorie, die nicht allgemein anerkannt ist, stützte sich Bail¹⁾ ursprünglich auf folgende von ihm festgestellte Tatsachen. Er zeigte, daß, wenn man Mikroben in das Peritoneum des Meerschweinchens einspritzt, diese für entsprechende, sonst gut agglutinierende Sera inagglutinabel werden. In Analogie damit zeigte er, daß mit auf 75° C erhitztem Immunserum vorbehandelte Mikroben inagglutinabel werden, ein Phänomen, das Volck und Eisenberg²⁾ u. a. mit der Proagglutinoidhypothese zu erklären versucht haben. Weiter zeigte Bail, daß die Peritonealflüssigkeit eines so vorbehandelten Meerschweinchens Normal- und Immunsera, die an sich nicht auf in der oben erwähnten Weise inagglutinabel gemachte Mikroben wirken, wieder aktiv machen kann, so daß die Mikroben beim Einwirken von Peritonealflüssigkeit und nicht agglutinierendem Serum ausgeflockt werden. Bail schloß aus diesen Versuchen, daß die Ausflockung durch das Zusammenwirken mehrerer Stoffe bedingt ist und daß die Peritonealflüssigkeit die eine Komponente, nämlich das Hemiagglutinin, einen dem Alexin vergleichbaren Stoff, enthält. Diese Erscheinung von Bail ist vielleicht als eine komplexe Ausflockung zu betrachten, und die Tatsache ist auch von Eisenberg³⁾ bestätigt worden, indem er zeigte, daß Mikroben, die für das erhitzte Serum nicht agglutinabel waren, wieder durch Hinzufügen von großen Dosen an sich nicht fällender Peritonealflüssigkeit ausgeflockt wurden. Eisenberg zeigte aber auch⁴⁾, daß dieses Phänomen nicht konstant ist, sondern nur an einem Bruchteil der Exsudate sich demonstrieren läßt.

Gewiß geht man aber zu weit, wenn man aus diesen speziellen, ziemlich vieldeutigen Versuchen den weitgehenden Schluß zieht, daß die Agglutinine überhaupt als komplexe Substanzen zu betrachten seien, und wenn man, wie Bail, die Unmöglichkeit, die Komplexität bei der gewöhnlichen Agglutination durch Immunagglutinin zu beweisen, damit erledigen will, daß bei der Agglutination im allgemeinen vielleicht so kleine Spuren von Alexin nötig sind, daß man dieselben nicht nachweisen kann. Die Tatsache, daß Sera, die weit über die das Alexin zerstörende Temperatur erhitzt sind, doch in voller Stärke die Agglutination zeigen, kann man nicht damit erklären, daß man, wie Bail⁵⁾, sagt: „es ist leicht möglich, daß die Erwärmung des Serums auf 56° zwar einen großen Teil, aber nicht das ganze Komplement zerstört. In einem solchen Serum werden dann Reaktionen, zu deren Eintreten verhältnismäßig viel Komplement nötig ist (Bakteriolyse), ausbleiben, nicht aber solche, für die schon ein geringerer Komplementgehalt ausreicht (Agglutination)“.

Ebensowenig wie durch diese alten Bailschen Versuche die komplexe Natur der Agglutinine im allgemeinen bewiesen ist, ebenso-

1) Bail, Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902.

2) Volck u. Eisenberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40.

3) Eisenberg, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.

4) Eisenberg, a. a. O., p. 253.

5) Bail, a. a. O.

wenig beweisend sind die Versuche von Braun¹⁾, Bail und Tsuda²⁾, Tsuda³⁾ mit Rinder-„Agglutinin“. Man darf wohl nicht diese speziellen Fälle generalisieren, und so lange es nicht bewiesen ist, daß die Agglutinine wie die Hämolysine in der Regel komplexe Substanzen sind, müssen sie als einfache betrachtet werden, was übrigens in Einklang mit der Mehrzahl der bekannten Tatsachen steht. Die Fälle aber, wo die Komplexität nachgewiesen ist, müssen vorläufig als besondere Einzelfälle betrachtet werden.

Wie ist nun die Ausflockung durch Rinderserum zu betrachten? Ist meine Konglutinationstheorie die richtige, oder ist die eigentümliche starke Ausflockung durch aktives Rinderserum, wie Bail meint, nur durch gleichzeitige Bakteriolyse und Agglutination zu erklären? Gibt es von Agglutininen differenzierbare Stoffe — Konglutinine — oder nicht?

Gegen die Konglutinationstheorie macht Bail folgende Bemerkungen:

1) Bail zeigt, daß Rinderserum auch in meinem Sinne echte Agglutinine gegen mehrere Mikroben, z. B. gegen einen von ihm untersuchten Diphtheriebacillus bildet. Diese Tatsache ist kein Beweis gegen die Konglutinationstheorie. Die Existenz der Agglutinine schließt wohl keineswegs die der Konglutinine aus, und ich habe auch niemals die Möglichkeit der Existenz echter Agglutinine im Rinderserum bezweifelt. Im Gegenteil habe ich ausdrücklich gesagt, daß neben den Konglutininen auch echte Agglutinine gegen verschiedene Mikroben, z. B. gegen die Tuberkelbacillen, existieren können⁴⁾. Ebenso wenig habe ich gedacht, daß ein bei 56° C. inaktiviertes Rinderserum, welches in den von mir benutzten Dosen keine sichtbare Ausflockung verursachte, keine Agglutinine enthalten könnte, im Gegenteil war es mir ganz klar, daß in solchem Serum selbst dann noch Agglutinine existieren könnten, wenn dasselbe, auch in vielfach größeren Dosen verwendet, doch keine sichtbare Ausflockung zeigte, und eben deshalb habe ich ja auch, um jede Spur von echten Agglutininen aus dem Rinderserum zu entfernen, das inaktive Serum in Kontakt mit den von mir untersuchten Mikroben gebracht und konnte zeigen, daß z. B. ein mit großen Mengen Typhusbacillen, Pertussisbacillen, Tuberkelbacillen usw. erschöpftes, in keinen Dosen auf native Mikroben mehr wirkendes, inaktives Rinderserum doch in voller Stärke die Ausflockung dieser Mikroben verursachte, sobald dieselben vorher sensibilisiert und alexiniert worden waren⁵⁾. Die unter diesen Bedingungen ausflockenden Substanzen des Rinderserums waren keine Agglutinine. Die Agglutinine waren ja aus dem Serum entfernt. Diese Stoffe, die nicht wie die Agglutinine direkt mit den nativen Mikroben sich binden und die keine Ausflockung der nativen Mikroben verursachen können, aber doch eine sehr starke Ausflockung der alexinierten Mikroben verursachen, habe ich Konglutinine genannt. Die ganze Beweisführung Bails, die darauf baut, daß Rinderserum auch Agglutinine enthält, ist also meines Erachtens vollständig verfehlt.

2) Bail zeigt, daß frisches, alexinhaltiges Meerschweinchenserum

1) Braun, Arch. f. Hyg. 1909.

2) Bail u. Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1909.

3) Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1909.

4) Streng, l. c. p. 70.

5) Später habe ich noch einen avirulenten Staphylococcus-Stamm untersucht und gesehen, daß derselbe sehr stark durch aktives Meerschweinchenserum und inaktives mit demselben Staphylococcus-Stamm vorbehandeltes erschöpftes Rinderserum konglutiniert wurde. Das Meerschweinchenserum allein hatte keine sichtbare Wirkung. Ähnliche Resultate bekam ich mit Diphtheriebacillus, aktivem Pferdealexin und erschöpftem inaktiviertem Rinderserum.

auch die Ausflockung durch frisches Rinderserum verstärkt. Er braucht eine relativ große Menge Meerschweinchen-Alexin und frisches Rinderserum in abnehmenden Dosen. Der Versuch zeigt eine Verstärkung der Ausflockung nur da, wo das Rinderserum in so kleinen Dosen von 0,001 bis 0,01 verwendet wurde, daß es nicht mehr als Alexin-, wohl aber als Konglutininquelle wirken konnte. In den größeren Dosen, wo genügende Mengen Rinderalexin vorhanden waren, war keine Verstärkung zu sehen. Diese Versuche sind doch keine Beweise gegen die Konglutinationstheorie. Im Gegenteil muß das frische Meerschweinchenalexin, wenn die Konglutinationstheorie richtig ist, da wo die Alexinmenge sonst zu klein ist, verstärkend einwirken, da aber, wo genug Alexin vorhanden ist, muß eine Verstärkung ausbleiben. Je stärker die Alexinierung der Mikroben ist, desto stärker tritt die Konglutination ein. Es ist deshalb ganz natürlich und im Einklange mit der Konglutinationstheorie, daß, wenn man durch Zufügen von frischem Meerschweinchenalexin die Alexinbeladung der Mikroben erhöht, infolgedessen ihre Ausflockung durch dieselbe Menge Konglutinin verstärkt wird. In Uebereinstimmung damit wirken schwache Alexine schwächer, z. B. werden die mit Kaninchenalexin oder mit altem, abgeschwächtem Alexin beladenen Mikroben nicht so stark ausgeflockt, als die mit frischem und starkem Meerschweinchenalexin beladenen.

3) Bail zeigt, daß sowohl durch frisches als auch durch inaktives Rinderserum gefällte, gut gewaschene und dann mechanisch verteilte Mikroben wieder spontan ausflocken, und zwar bedeutend stärker die ursprünglich mit frischem Serum, als die mit inaktivem Serum behandelten. Diese Tatsache ist aber kein Beweis gegen die Konglutinationstheorie, sondern scheint mir ganz selbstverständlich.

Bail sagt, daß hier die Konglutination in einer Flüssigkeit erfolgt, die weder Sensibilisator, noch Alexin, noch Konglutinin enthält. Er könnte mit demselben Recht auch noch sagen, daß hier eine Agglutination entsteht, obwohl keine Agglutinine vorhanden sind. Denn es ist ein Irrtum, wenn Bail glaubt, daß die Konglutinine nicht gebunden werden können. Sie werden nicht von den nativen Mikroben gebunden, von den alexinierten werden sie es aber sicher. Der Versuch, den Bail zitiert, wurde mit einem Typhusstamm gemacht, gegen welchen das benutzte Rinderserum keine, oder jedenfalls nur sehr schwache Sensibilisatoren hatte. Die kleine Serummenge konnte deshalb nicht die große Menge von Mikroben sensibilisieren und denselben genügende Mengen Alexin geben. Die Mikroben wurden in diesem Versuche deshalb nicht oder nur wenig konglutiniert und konnten nicht Konglutinin binden, wenigstens nicht in größerer Menge. Die Erfahrungen mit Blutkörperchen zeigen ja, daß sehr große Mengen alexinierter Blutkörperchen notwendig sind, um ein Serum konglutininfrei zu machen. Dieses ist, wie ich gesagt habe, auch wahrscheinlich der Fall mit den Mikroben. Die Konglutinationstheorie setzt also gar nicht voraus, daß die Konglutinine nicht gebunden werden. Im Gegenteil kann man z. B. durch folgende Versuchsanordnung zeigen, daß die Konglutinine wirklich durch alexinierte Mikroben gebunden werden.

Läßt man ein aktives Rinderserum auf solche Mikroben wirken, die durch dasselbe wirklich sensibilisiert werden, so nehmen die Mikroben auch das Alexin des Rinderserums auf und werden infolgedessen durch die Konglutinine ausgeflockt. Nimmt man z. B. Typhusbacillen, welche sich in dieser Weise gegen aktives Rinderserum verhalten, so läßt sich ein Konglutininverlust des Serums leicht zeigen. Ich benutzte zu diesem

Versuche einen anderen Typhusstamm, als zu dem früher¹⁾ genannten Versuche. Dieser Stamm war ein lange Zeit künstlich gezüchteter Typhusstamm, den ich von Dr. K. Landsteiner, Wien, bekam. Der Stamm wurde vom aktiven Rinderserum stark ausgeflockt, durch inaktives bedeutend schwächer, verhielt sich also etwas anders als der früher benutzte Typhusstamm.

In zwei Röhrchen wurden 10 Tropfen (= eine ganze Agarkultur) sehr dicker Kochsalzemulsion dieses Typhusstammes gebracht. Zu dem einen wurde 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 0,3 ccm frisches Rinderserum, zum anderen ebensoviel Kochsalzlösung und 0,3 ccm desselben Rinderserums, welches vorher durch Erhitzen auf 56° inaktiviert worden war, gebracht. In Tube 1 entstand eine sehr starke Ausflockung, in Tube 2 eine kaum sichtbare. Nach 2 Stunden wurden die Tuben gut zentrifugiert und die Flüssigkeiten I und II abpipettiert. Um jetzt die Konglutininmenge dieser beiden Flüssigkeiten zu vergleichen, benutzte ich einen durch Rinderserum leicht konglutinierbaren *Staphylococcus aureus*-Stamm, der nicht durch inaktives Rinderserum ausgeflockt wurde, wohl aber auch von diesem, sobald das beim Inaktivieren zerstörte Alexin mit z. B. Meerschweinchenalexin ersetzt wurde. Das Meerschweinchenalexin konnte nicht allein die Mikroben ausflocken. Die Flüssigkeiten I und II enthielten beide Sensibilisatoren für diesen *Staphylococcus*; sie waren je mit Typhus, nicht *Staphylococcus*, behandelt.

In zwei Reihen von Tuben wurden jetzt 15 Tropfen einer dünnen *Staphylococcus*-Emulsion und 2 Tropfen frisches Meerschweinchenalexin gebracht. In der ersten Reihe wurde Flüssigkeit I in fallenden Dosen zugefügt, in der zweiten Reihe die Flüssigkeit II. Ein Tropfen war ungefähr gleich 0,05 ccm. Die Tuben wurden bei Zimmertemperatur in konstanter, gleichmäßiger Bewegung gehalten. Das Resultat geht aus folgender Tabelle hervor:

Reihe I				Reihe II			
15 Tropfen <i>Staphylococcus aureus</i> -Emulsion und 2 Tropfen Meerschweinchenalexin.				15 Tropfen <i>Staphylococcus aureus</i> -Emulsion und 2 Tropfen Meerschweinchenalexin			
Ausflock. n.				Ausflock. n.			
$\frac{1}{2}$ Std.				$\frac{1}{2}$ Std.			
Tub. 1	0,6 Flüssigkeit I	++++		Tub. a	0,6 Flüssigkeit II	++++	
" 2	0,4 "	++++		" b	0,4 "	++++	
" 3	0,2 "	+++		" c	0,2 "	++++	
" 4	0,1 "	++		" d	0,1 "	+++	
" 5	0,05 "	—		" e	0,05 "	+++	

Der Versuch zeigt, daß die Flüssigkeit I eine schwächere Ausflockung des *Staphylococcus aureus* bewirkte als die Flüssigkeit II. In Flüssigkeit I hatten also die Typhusbacillen die entsprechenden Sensibilisatoren und Alexin und teilweise Konglutinin gebunden, in Flüssigkeit II die Sensibilisatoren aber kein Konglutinin. Der Versuch zeigt auch, mit welcher Schwierigkeit das Konglutinin eines Serums erschöpft wird, was ja auch nicht auffallend ist, da man weiß, in wie kleinen Dosen das Rinderserum noch konglutinieren kann (siehe Bordet und Streng²⁾). Aehnliche Resultate bekam ich, wenn ich vice versa zuerst die Staphylokokken auf frisches und inaktives Rinderserum einwirken ließ und dann die konglutinierende Stärke des Rinderserums auf Typhusbacillen versuchte.

Diese Versuche zeigen weiter auch, was schon früher bekannt war,

1) Streng, l. c.

2) Bordet und Streng, l. c.

(Bordet und Gay)¹⁾, daß das Konglutinin nicht wie das Agglutinin spezifisch gebunden wird. Die Staphylokokken banden die auf Typhus wirkenden Konglutinine und umgekehrt.

4) Bail zeigt, daß, wenn man Diphtheriebacillen mit Rinderserum behandelt und die danach gut gewaschenen Mikroben bei 42° C digeriert, die Mikroben Stoffe abgeben, die allein keine Wirkung auf native Mikroben ausüben, aber zusammen mit frischem Meerschweinchenalexin eine starke Ausflockung zeigen. Auch diese Versuche von Bail sind meines Erachtens keine Beweise gegen die Konglutinationstheorie. Bei der Konglutination binden die sensibilisierten und alexinierten Mikroben das Konglutinin. Beim Digerieren in Kochsalzlösung wird das Alexin nicht abgegeben. Das einmal gebundene Alexin wird ja nicht, wie Erfahrungen aus der Hämolyselehre uns zeigen, wieder abgespaltet, wohl aber kann man denken, daß das Konglutinin von den alexinierten Mikroben abgespaltet wird, ganz wie das Agglutinin von den nativen, und eine Reaktivierung der Konglutination ist deshalb ebenso natürlich, wie eine Reaktivierung der Agglutination. Betrachten wir jetzt den Versuch von Bail.

Durch aktives Rinderserum ausgeflockte, also meiner Ansicht nach konglutinierte, danach gewaschene Diphtheriebacillen geben beim Digerieren bei 45° C Substanzen ab, die wieder auf neue Bacillen nur unter der Bedingung aktiv wirken können, daß aktives frisches Meerschweinchenalexin zugeführt wird. Sie geben also Stoffe ab — meiner Ansicht nach Konglutinine — die nicht wie gewöhnliche Agglutinine direkt wirken, sondern erst nach Zusatz von aktivem, alexinhaltigem Serum von einem Tiere, Meerschweinchen, dessen Serum oft Sensibilisatoren gegen Diphtheriebacillen, besonders gegen lange Zeit künstlich kultivierte, enthält. Der Versuch von Bail ist also meiner Ansicht nach kein Beweis gegen die Konglutinationstheorie.

5) Bail sagt weiter, daß die Konglutinationstheorie eine äußerst verwickelte ist. Auch das ist kein Beweis gegen die Konglutinationstheorie. Uebrigens scheint sie mir gar nicht so kompliziert zu sein. Im Gegenteil scheint es mir ganz natürlich, daß einerseits native, andererseits alexinierte Mikroben sich im Serum verschieden gegen die im Serum befindlichen kolloiden Stoffe verhalten. Es ist ja ganz natürlich, daß die Adsorptionsverhältnisse bei den nativen und alexinierten Mikroben verschieden sind. Die Oberflächenspannung der nativen Mikroben und die der Komplexe: Mikroben, Sensibilisator, Alexin kann ja ganz gut eine ungleiche sein, so daß in einem Falle hauptsächlich nur die eine Gruppe Kolloide — die Agglutinine — in dem anderen eine andere Gruppe — die Konglutinine — adsorbiert werden.

Schwer wäre dagegen die Bailsche Ansicht zu verstehen, daß Alexin bei Abspaltung gewöhnlicher Immunagglutinine (Agglutinophor + Alexin nach Bail) abgespaltet wird. Wir wissen ja, daß einmal gebundenes Alexin nicht wieder frei zu machen ist. Die Bailsche Hypothese fordert aber konsequent auch die Abspaltungsmöglichkeit der Alexine.

6) Bail sagt, daß gegen die Komplexität der in Rede stehenden Ausflockung vielleicht noch der Einwand gemacht werden könnte, daß es sich hier um eine Summierungswirkung zweier Agglutinine handeln könnte. Gegen die Versuche Bails und seiner Mitarbeiter könnte wohl diese Bemerkung gemacht werden, nicht aber gegen meine Versuche, denn man kann nicht von einer Summierung sprechen, wo der eine Faktor, das inaktive Rinderserum, wie ich gezeigt habe, noch nach dem jeder Spur von Agglutinin entfernt ist, doch konglutinierend wirkt.

1) Bordet und Gay, Anm. de l'Inst. Pasteur, 1906.

Bail greift aber nicht nur die Konglutinationstheorie an. Er gibt auch eine positive Erklärung für die eigentümliche, von der Gegenwart genügender Mengen Alexins abhängige Ausflockung durch Rinderserum. Er sagt, daß diese dadurch ungezwungen zu erklären ist, daß bei derselben Agglutination mit Bakteriolyse zusammentrifft, und zeigt, daß die durch frisches Rinderserum ausgeflockten Mikroben deutliche Merkmale der Bakteriolyse zeigen. Die Existenz der Bakteriolyse in diesem Falle zu verneinen, ist gar nicht meine Absicht. Im Gegenteil ist es sicher, daß dabei Lyse stattfindet. Nur sind es aber meines Erachtens nicht die Agglutinine, welche hier wirksam sind, sondern die Konglutinine, und ich möchte mich deshalb so ausdrücken, daß die in Rede stehende Ausflockung durch Zusammentreffen von Bakteriolyse und Konglutininwirkung zu erklären ist.

Die Auffassung Bails gibt übrigens, wie es mir scheint, keine Erklärung des zu besprechenden Phänomens. Wäre es eine allgemeine Regel, daß beim Zusammentreffen von Bakteriolyse und Agglutination eine besonders starke Ausflockung entsteht, so könnte vielleicht diese Auffassung als eine Erklärung angesehen werden. Mir wenigstens sind aber keine Versuche bekannt, aus denen sich ergeben würde, daß die Bakteriolyse die Agglutination befördert. Im Gegenteil kann man direkt zeigen, daß beginnende Bakteriolyse die Mikroben inagglutinabel macht, selbst für starken Immunagglutinine.

Das Auftreten von Hemmungen im frischen Sera ist ja gar keine seltene Erscheinung, und diese Erscheinung ist, wie ich in einem Vortrag auf dem XIV. Int. Med. Kongreß gezeigt habe, eben auf eine hemmende Wirkung der Alexine zurückzuführen. Ich habe eine große Menge solcher Untersuchungen gemacht, und nie habe ich die hemmende Wirkung der Alexine in den Fällen vermißt, wo Alexin gebunden wurde und Bakteriolyse entstand. Die Versuche von van Loghem¹⁾ haben früher zu demselben Resultate geführt. Die Inagglutinabilität der Bailschen Exsudatbakterien²⁾ ist vielleicht auch auf eine Hemmung durch Alexinbeladung zurückzuführen. Die Bailsche „Erklärung“, daß die starke Ausflockung durch frisches Rinderserum auf dem Zusammentreffen von Bakteriolyse und Agglutination beruht, ist also nicht nur nicht eine Erklärung, sondern widerspricht den Erfahrungen über den Einfluß der Bakteriolyse auf Agglutination, und was noch wichtiger ist, steht in direktem Widerspruch zu den mit echten Rinderagglutininen gefundenen Tatsachen. Wenn man nämlich durch Dialyse des inaktiven Rinderserums die Agglutinine, also die die nativen Mikroben direkt ausflockenden Substanzen, von den als Konglutinine wirkenden, welche keinen sichtbaren Einfluß auf die nativen Mikroben ausüben, möglichst trennt, so bewirken die als Agglutinine zu betrachtenden Substanzen beim Zusammentreffen mit Bakteriolyse konstant keine oder minimale Ausflockung, wobei die Bakteriolyse sehr deutlich zu sehen ist, während die von mir als Konglutinine bezeichneten Substanzen konstant eine sehr schöne Ausflockung bei beginnender Bakteriolyse hervorrufen.

1) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45.

2) Diese Ausflockung der Bakterien durch Immunserum und Exsudat zusammen könnte vielleicht auch als eine Konglutination aufgefaßt werden. Das Immunserum liefert den Sensibilisatoren, das Exsudat vielleicht außer dem Alexin auch Konglutinin. Das Konglutinin wäre dann als ein von den Leukocyten abgespaltenes Produkt anzusehen. Versuche, die diese Erscheinung aufzuklären beabsichtigen, sind im Gange und gleichzeitig werden eventuelle Berührungspunkte zwischen Konglutinen und Opsoninen besonders berücksichtigt.

Schließlich noch eine Nebenbemerkung. Bail glaubt, daß mir die Relativität der Inaktivierungstemperatur unbekannt gewesen wäre. Er irrt sich in dieser Beziehung. Ich war sehr gut damit bekannt. Ich¹⁾ hatte schon, bevor ich diese Versuche mit Konglutininen machte, eingehend die Einwirkung der Temperatur auf Agglutinine studiert und die Abhängigkeit der Inaktivierungsgeschwindigkeit von der Temperatur eingehend untersucht und dabei besonders die große Bedeutung der Individualität hervorgehoben. Bail irrt sich auch, wenn er glaubt, daß „ich die Agglutination als eine Serumwirkung, welche durch die Temperatur von 56° C nicht zerstört wird, charakterisieren“ will. Daraus, daß ich, wie Bail zitiert, die die Ausflockung der Coli- und Typhusbacillen hervorrufenden Stoffe sicher teilweise als Agglutinine betrachtet habe, „da sie, nachdem das Serum auf 56° erhitzt und so seines Alexins beraubt worden war, wenigstens teilweise zurückgeblieben waren“, folgt nicht umgekehrt, daß nicht auch thermolabile, echte Agglutinine existieren können.

Zuletzt die von Bail erörterte Prioritätsfrage. Es ist ein Irrtum, wenn Bail glaubt, daß seine Arbeit von 1902 mir unbekannt war. Mir schien und scheint es noch, daß ich keinen Grund hatte, diese Versuche anzuführen, die einen ganz besonderen Ausnahmefall von Ausflockung betreffen. Die Tatsache, daß Bail die von ihm gefundene spezielle Ausflockung als für alle Agglutinine gültig ansah, konnte mir kein Grund dafür sein. Ich bearbeitete ja ein ganz anderes Phänomen und beanspruche keine Priorität für die Ansicht, daß die Agglutinine komplexer Natur seien, eine Ansicht, die ich übrigens nicht teile.

Die Arbeiten von Braun²⁾, Bail und Tsuda³⁾ waren noch nicht erschienen, als ich meine Arbeit im Herbst 1908 beendet hatte und im Dezember 1908 an das Centralblatt für Bakteriologie einsandte. Die Arbeit von Tsuda⁴⁾ erschien erst, nachdem meine Arbeit schon erschienen war. Ich konnte deshalb nicht diese Versuche des Prager Institutes kennen und berücksichtigen. Ich konstatiere jetzt, daß auch Braun gefunden hat, daß die Ausflockung von Choleravibrionen durch frisches Rinderserum ein komplexer Prozeß sein kann, und daß er zeigte, daß inaktiviertes Rinderserum durch an sich nicht wirkendes Kalbsserum reaktiviert werden kann. Braun, der sich ganz auf die Auffassung Bails stützte, hat doch meiner Ansicht nach das Wesen der in Rede stehenden Ausflockung nicht aufgeklärt. Dasselbe gilt für die Abspaltungsversuche von Tsuda, Bail und Tsuda, deren Versuche meines Erachtens nur so zu deuten sind, daß das Rinder-„Agglutinin“ nicht immer ein Agglutinin ist. Die abgespalteten echten Agglutinine brauchen kein Alexin, um aktiv zu werden, siehe z. B. Landsteiner und Reich⁵⁾, während diese es brauchen. Die mit inaktivem Rinderserum vorbehandelten Choleravibrionen gaben in dem Versuche von Tsuda Stoffe ab, die allein auf native Mikroben, obwohl oft schwach, wirksam waren und die wohl als echte Agglutinine zu betrachten waren. Die konnten nicht durch Hinzufügen von frischem, alexinhaltigem Serum in dem Maße aktiviert werden, wie die als Konglutinin zu betrachtenden allein vollständig unwirksamen Abspaltungsprodukte, welche

1) Streng, Zeitschr. f. Hyg. 1908.

2) Braun, l. c.

3) Bail und Tsuda, l. c.

4) Tsuda, l. c.

5) Zeitschr. f. Hyg. 1907.

mit frischem Rinder Serum vorbehandelte also sensibilisierte und alexinierte Mikroben abgeben. Die schwache Verstärkung durch frisches Serum, die Tsuda bei Abspaltungsprodukten der mit inaktivem Serum vorbehandelten Mikroben fand, ist wohl einfach als eine Summationswirkung zweier schwach oder gar nicht sichtbar wirkender Agglutinine zu verstehen. So muß wohl auch die Angabe Bails über die Abspaltungsprodukte der mit inaktivem Rinder Serum vorbehandelten Diphtheriebacillen verstanden werden.

Vergleichen wir zum Schlusse noch an der Hand der Tatsachen die Agglutinine und die von mir als Konglutinine bezeichneten Stoffe.

1) Agglutinine werden von nativen Mikroben gebunden, Konglutinine nicht.

2) Agglutinine flocken die nativen Mikroben aus, Konglutinine nicht.

3) Für die Ausflockung durch Konglutinine ist Gegenwart und Bindung des Alexins notwendig, für die Wirkung der Agglutinine ist die Bindung des Alexins und Bakteriolyse ein Hindernis.

4) Die Agglutinine verbinden sich spezifisch, die Konglutinine nicht.

5) Die Agglutinine und Konglutinine verhalten sich bei der Dialyse verschieden; die Konglutinine werden dabei leicht präzipitiert, die Agglutinine nicht.

6) Mikroben, die stark agglutiniert sind, lassen sich nur schwer konglutinieren und umgekehrt.

7) Die Konglutinine können in Serum nachgewiesen werden, nachdem die Agglutinine entfernt sind.

8) Mit Hilfe von Konglutination können Mikroben voneinander differenziert werden, die sich mit Hilfe der Agglutination nicht unterscheiden lassen.

9) Konglutinine und Agglutinine können von Mikroben gebunden werden, obwohl unter verschiedenen Bedingungen. Beide können wieder abgespaltet werden und behalten dabei ihre ursprünglichen Eigenschaften.

Bail zieht es vor, die Konglutinine in die Rubrik der Agglutinine einzureihen und aus dem Verhalten der Konglutinine auf das der Agglutinine zu schließen. Mir scheint es vorläufig richtiger, diese Stoffe auseinander zu halten und wegen der angeführten Unterschiede zwischen beiden Agglutination und Konglutination als wohldefinierte und prinzipiell verschiedene Arten von Ausflockungen anzusehen.

Nachdruck verboten.

Ueber inaktivierte Sera¹⁾.

Vorläufige und zusammenfassende Mitteilung über einige auf Immunität sich beziehende Fragen.

[Aus der Medizinischen Klinik der Kgl. Universität Genua (Vorst. Prof. E. Maragliano).]

Von Dr. G. Romanelli, Assistenten.

Im Auftrage und unter der Leitung meines hochgeehrten Lehrers, Herrn Prof. Maragliano, habe ich eine Reihe von Versuchen und Untersuchungen in vitro am Menschen und an Tieren über die Inaktivierung der Sera ausgeführt.

Die ausführliche Darlegung meiner Untersuchungen mit Anführung der entsprechenden Literaturangaben werde ich später veröffentlichen. Hier will ich nur die wichtigsten Ergebnisse in Form einer vorläufigen Mitteilung kurz zusammenfassen, und einfach die Tatsachen berichten, die im Laufe meiner Versuche als beweiskräftig hervorgegangen sind.

Meine Untersuchungen können in zwei Teile geteilt werden: Der erste — welchen ich als vorbereitend bezeichnen werde — bezieht sich auf den Einfluß, welchen gewisse Temperaturen auf die durch einige für den Menschen heterogene und ein hohes toxisches Vermögen für denselben besitzende Sera hervorgerufene allgemeine und lokale Reaktionserscheinungen ausüben; der zweite bezieht sich auf die Wirkung, welche eine geeignete Wärme auf die therapeutischen Antituberkulosesera entfaltet.

I. Versuche mit Ziegen- und Hundeserum.

Bei den Versuchen des ersten Teiles habe ich Ziegen- und Hundeserum angewendet. Dasselbe wurde in perfekt steriler Weise gewonnen und nach möglichst kurzer Zeit verwendet.

Die Versuche wurden ausgeführt zum Teil an Kranken aus unserer Klinik, welche verschiedenartige chronische Läsionen, und besonders solche des Nervensystems aufwiesen, sich aber in einem guten Ernährungszustande befanden und eine normale Temperatur hatten; und zum Teil an tuberkulösen Kranken aus dem Ospedale di S. Martino d'Albaro, die mir vom Vorsteher, Herrn Dr. Giordano, welchem ich hier meinen verbindlichsten Dank ausdrücke, freundlichst zur Verfügung gestellt wurden.

Die Sera wurden durch tiefe inframuskuläre Injektionen eingeführt. Bei der experimentellen Behandlung der verschiedenen Individuen bin ich immer so vorgegangen, daß ich genaue vergleichende Daten über die toxische Wirkung erhielt, welche ein jedes Serum, in verschiedener Dosis angewendet, sowohl im frischen Zustand wie nach der Inaktivierung bei verschiedener Temperatur (56°—63° C) ausübte.

Ohne auf die Einzelheiten näher einzugehen, werde ich nur die Hauptschlußfolgerungen anführen, zu welchen ich gekommen bin. Dieselben lauten folgendermaßen:

1) Die intramuskuläre tiefe Einspritzung von zwischen 3 und 5 ccm schwankenden Mengen frischen Hundeserums ruft bei fieberlosen, in

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl (Turin).

gutem Ernährungszustande sich befindenden Patienten mit verschiedenartigen chronischen Affektionen (hauptsächlich des Nervensystems) eine intensive lokale entzündliche Reaktion in der Gegend der Einspritzung und in den benachbarten Regionen hervor, welche von einer mehr oder minder ausgesprochenen, 2—4—5 Tage dauernden fieberhaften allgemeinen Reaktion begleitet ist. Das Ziegen Serum wirkt in dieser Beziehung noch stärker als das Hundeserum.

2) Wenn man dieselben Patienten mit denselben Seris behandelt, aber nachdem diese durch eine $\frac{1}{2}$ —3-stündige Aussetzung einer Temperatur von 56° C inaktiviert worden sind, kommen die lokalen Reaktionssymptome nicht zum Vorschein, wenn die angewendete Serummenge nicht 5 ccm erreicht, und sind stets weniger ausgesprochen und haben eine kürzere Dauer (1—2 Tage) als im vorigen Falle (No. 1).

3) Durch eine allmähliche Erhöhung der Inaktivierungstemperatur von 56° auf 60° bewirkt man eine progressive Abschwächung der von den Sera auf den Menschen ausgeübten toxischen Wirkung.

So kann man den oben genannten Patienten 8—10 ccm der 3 Stunden lang bei 60° C inaktivierten Sera inokulieren, ohne irgendwelche lokale Reaktionserscheinung zu beobachten.

4) Bezüglich ihrer toxischen Wirkung auf den Menschen sind keine merkbaren Unterschiede zwischen den bei 60° C und den bei 63° C inaktivierten Seris zu beobachten.

5) Bei tuberkulösen Patienten genügen geringere Dosen des frischen Ziegen- resp. Hundeserums, als bei den obigen Patienten, um sehr starke lokale und allgemeine Reaktionserscheinungen hervorzurufen. So treten bei tuberkulösen Individuen bereits nach der Einspritzung von 2 ccm der genannten Sera ziemlich intensive örtliche und allgemeine Vergiftungserscheinungen auf, welche nicht weniger als 2—3 Tage dauern.

6) Wenn man bei tuberkulösen Patienten an Stelle der frischen Sera solche anwendet, die $\frac{1}{2}$ —3 Stunden bei 56° C inaktiviert worden sind, muß man, um lokale entzündliche Reaktionserscheinungen hervorzurufen, wenigstens 3,5—4 ccm des Serums einspritzen.

7) So kann man diesen Patienten bis 5—6 ccm eines Ziegen- oder Hundeserums einspritzen, welches für die übliche Zeitdauer bei 60° C inaktiviert worden ist, ohne irgendwelche Reaktion hervorzurufen.

8) Der Grad der spezifischen Läsionen und der bessere oder schlechtere Ernährungszustand der tuberkulösen Patienten üben auf das Auftreten der durch die Sera hervorgerufenen Erscheinungen keinen merkbaren Einfluß aus.

II. Versuche mit Antituberkuloseseris.

Zu diesem Zweck habe ich Maraglianos antitoxisches Serum und bakteriolytisches Serum angewendet. Meine Untersuchungen auf diesem Gebiet waren sehr verschiedenartig. Der Klarheit und Kürze halber werde ich sie in mehrere Gruppen teilen: a) Untersuchungen in vitro; 2 Untersuchungen an Tieren; 2 Untersuchungen an tuberkulösen Patienten; 4 Untersuchungen an nicht tuberkulösen Patienten.

A. Untersuchungen in vitro. Hier beschränkte ich mich auf die Untersuchung der verschiedenen Immunisierungskraft des antitoxischen Tuberkuloseserums vor und nach der Inaktivierung desselben bei 56° bis 60° C, d. h. genauer, auf die Untersuchung des Verhaltens des Agglutinations-, Fällungs- und opsonischen Vermögens.

Ohne auf die Details näher einzugehen, werde ich nur hervorheben

daß ich bei den verschiedenen Versuchen mit nicht inaktiviertem und inaktiviertem antitoxischen Serum keine merkbaren quantitativen Aenderungen der genannten immunisierenden Stoffe beobachtet habe. Meine Resultate bestätigen übrigens unsere heutigen Kenntnisse über den Einfluß, welchen die Temperatur auf die Agglutinine und Präzipitine der Immunsera und auf die spezifischen Opsonine derselben ausübt. Bezüglich dieser letzten haben die neueren Untersuchungen von Levaditi und Jumann nachgewiesen, daß die spezifischen Opsonine der Immunsera thermostabil sind und somit gegen eine Temperatur von 60°C widerstandsfähig sind, während die Opsonine des normalen Serums durch eine 10-minütige Temperatur von 60°C zerstört werden (Wright und Douglas).

B. Untersuchungen an Tieren. Meine Tierversuche (Kaninchen) strebten darauf hin, die immunisierende Wirkung der inaktivierten Immunsera im Vergleich zur derjenigen derselben nicht inaktivierten Sera zu bestimmen. Zu diesem Zweck wendete ich Bakteriolyisin an. Drei Reihen von Kaninchen von annähernd demselben Gewicht und demselben Alter (deren Serum frei von tuberkulösen Agglutininen, Präzipitinen und Sensibilisatoren war) wurden jeden dritten Tag mit zunehmenden Mengen des Bakteriolyisins (0,5—2 ccm pro Kilo Tier) intravenös behandelt. Die Kaninchen der ersten Reihe habe ich mit frischem Ziegenbakteriolyisin behandelt, diejenigen der zweiten und dritten Reihe mit bei 56°C resp. 60°C eine Stunde lang inaktiviertem Bakteriolyisin.

Die Dauer dieser passiven Immunisierung war für jedes Tier ungefähr einen Monat lang; für jedes Kilo Kaninchen wurden annähernd 15 ccm des bakteriolytischen Serums angewendet. Nach jeder zweiten Seruminjektion prüfte ich in allen 3 Reihen von Versuchstieren das Agglutinations-, Fällungs- und sensibilisierende Vermögen des Blutserums des Kaninchens und bestimmte die entsprechenden Werte.

Ich gelangte zu folgenden Resultaten:

1) Das bei einer nicht 60°C überschreitenden Temperatur inaktivierte Immunserum ist nicht nur *in vitro* imstande, seine spezifischen agglutinierenden und fällenden Eigenschaften unverändert zu erhalten, sondern ruft auch *in vivo* bei gesunden Tieren die Bildung derselben Immunkörper hervor.

2) Bezüglich der Erzeugung *in vivo* dieser Immunkörper besteht kein merkbarer quantitativer Unterschied zwischen der Wirkung des nicht inaktivierten und diejenige des eine Stunde lang bei 56 — 60°C inaktivierten Immunserums.

3) Das des Komplements beraubte Immunserum wird durch die Wärme im Kaninchenblut komplettiert, so daß nach einer gewissen Zeit im Serum des Kaninchens spezifische Antikörper nachweisbar sind.

4) Bezüglich des Auftretens und der Menge dieser letzten im Blute der passiv immunisierten Tiere besteht kein sichtbarer Unterschied zwischen der Wirkung des nicht inaktivierten und derjenigen des inaktivierten Immunserums.

C. Untersuchungen an tuberkulösen Patienten. — Diese erstrecken sich auf 21 in verschiedenem Krankheitsstadium sich befindende tuberkulöse Individuen, von denen 7 spezifische Läsionen an den serösen Häuten aufwiesen. In allen diesen Fällen konnte ich ziem-

lich hohe Dosen sowohl des antitoxischen wie des bakteriolytischen 2 Stunden lang bei 60° C inaktivierten Serums anwenden und die Behandlung lange Zeit fortsetzen, ohne irgendwelche von den Reaktionserscheinungen hervorzurufen, welche bei Anwendung gleicher Dosen nicht inaktivierten Serums leicht auftreten.

Das inaktivierte antitoxische Serum wies, in der Dosis von 10 ccm und mit Zwischenzeiten von 3—4 Tagen angewendet, öfters ein temperaturherabsetzendes Vermögen auf, eine Erscheinung, die höchst interessant ist.

Meine Untersuchungen des Blutserums und — im Falle von Affektionen der serösen Häute — der pathologischen Exsudate dieser Patienten vor und nach der Behandlung mit inaktiviertem Serum haben mich zu folgenden Resultaten geführt:

1) Nach der Behandlung mit inaktiviertem Serum beobachtet man stets eine Erhöhung des Agglutinations- und Präzipitationsvermögens des Blutserums und der diese Vermögen besitzenden tuberkulösen Exsudate.

2) In den Fällen, wo im Blutserum und in den Exsudaten keine spezifischen Agglutinine und Präzipitine vorhanden sind, bewirkt die Behandlung mit inaktiviertem Immunserum das Auftreten solcher.

3) Infolge von intramuskulären Einspritzungen von mittelmäßigen Dosen von inaktiviertem antitoxischen resp. bakteriolytischem Serum kann man nach einer gewissen Zeit im Blutserum der Patienten spezifische Sensibilisatoren nachweisen, während (wo) diese vorher fehlten.

Unter 13 Patienten, bei welchen diese Untersuchung negativ ausgefallen war, beobachtete ich, nach der Behandlung mit inaktiviertem Serum, bei Anwendung der Methode der Komplementablenkung, 3mal eine völlige Hemmung der Hämolyse (23,07 Proz.), 8mal partielle Hemmung (61,5 Proz.) und nur 2mal vollständige Hämolyse (15,43 Proz.).

4) Unter 4 Fällen von tuberkulösen Exsudaten, in welchen die Untersuchung nach Sensibilisatoren negativ ausgefallen war, fiel dieselbe nach der Behandlung mit dem Serum 1mal ganz positiv (25 Proz.), 1mal zum Teil positiv (25 Proz.) und 2mal (50 Proz.) negativ aus.

5) Die Anwesenheit von Sensibilisatoren im Blutserum obiger Patienten wurde in einigen Fällen auch noch verschiedene Tage nach der letzten Einspritzung von inaktivem Serum, d. h. zu einer Zeit beobachtet, wo man annehmen konnte, daß die Ausscheidung des heterogenen Serums aus dem menschlichen Organismus bereits eine vollständige gewesen war.

Diese Tatsache legt den Gedanken nahe, daß das therapeutische Serum nicht nur eine passiv immunisierende Wirkung auf den Organismus ausübt, wie man im allgemeinen glaubt, sondern daß es, wie Maragliano behauptet, dazu beiträgt, im Organismus die Bildung von geeigneten Schutzstoffen hervorzurufen.

D. Untersuchungen an nichttuberkulösen Patienten. — Um festzustellen, ob das Auftreten von immunisierenden Körpern im Blute mit hohen Dosen inaktivierten Antituberkuloseserums behandelter Individuen in enger quantitativer Beziehung mit den künstlich eingeführten immunisierenden Stoffen stand, habe ich das Agglutinationsvermögen des Blutserums von 5 nichttuberkulösen Patienten während der passiven Immunisierung untersucht. Das Blutserum dieser Patienten enthält vor der Behandlung keine spezifischen Agglutinine.

Ich konnte nachweisen, daß nach der intramuskulären Einführung von 60 ccm antitoxischen Serums — in 6 Dosen geteilt und mit Zwischenzeiten von 3—4 Tagen verarbeitet — das Blutserum der behandelten Patienten ein in dem Verhältnis zur homogenen Tuberkulosekultur zwischen 1:8 und 1:12 schwankendes Agglutinationsvermögen aufwies. Das Agglutinationsvermögen des eingeführten Serums agglutinierte dieselbe Kultur im Verhältnis 1:300.

Von dem Körpergewicht der Patienten und infolgedessen von dem Volumen ihrer Blutmasse ausgehend, konnte ich nun feststellen, daß die im Blute der passiv immunisierten Individuen vorhandenen Agglutinine nicht total auf das fremde Serum zurückgeführt werden konnten, sondern ein großer Teil von ihnen war auf einen wirklichen Prozeß von aktiver Immunisierung zurückzuführen, wie Maragliano schon lange behauptet hat. In der Tat, wenn man auch annehmen wollte, daß alle angewendeten 60 ccm des Serums mit ihren agglutinierenden Einheiten in das Blut der 5 Patienten übergegangen seien und daß im Blute dieser letzten eine einfache Verdünnung der Agglutinine selbst stattgefunden habe, und des weiteren, daß keine einzige der agglutinierenden Einheiten vom Organismus ausgeschieden worden sei — was in Wirklichkeit bei weitem nicht der Fall ist — so müßte doch das Agglutinationsvermögen des Blutes dieser Patienten nicht höher als 0,90—0,72:1 Kultur sein sollen, während die gefundene Zahl viel höher war.

Aus allen diesen Versuchen *in vitro*, an Tieren und an Menschen scheinen somit die Vorteile der Anwendung der inaktivierten Sera in der medizinischen Praktik in unbestreitbarer Weise hervorzugehen, da diese Sera, während sie dank der geeigneten Wärme (60° C) einen großen Teil ihrer toxischen und irritierenden Eigenschaften verlieren, ihre therapeutische Wirksamkeit ganz unverändert erhalten.

Genua, Juli 1909.

Nachdruck verboten.

Sur le pouvoir immunisant contre la rage chez les murides des diverses parties du système nerveux d'animaux enragés et sains.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université
de Sassari.]

Note seconde.

Par le Prof. Claudio Fermi.

Après d'avoir démontré dans un précédent travail un pouvoir immunisant bien divers chez les murides, de la substance cérébrale *in toto* et celle des substances blanche et grise séparées, j'ai voulu voir comment se comporte-t-il le pouvoir immunisant des différentes parties du système nerveux, séparées et réunies, de l'homme et d'animaux rabiques et sains.

1) Fermi, C., *Sopra una singolare, importante differenza esistente tra il potere antirabico della sostanza cerebrale in toto e quella delle sostanze bianca e grigia separate.* (Arch di Farm. Vol. 7. 1908.)

A ce but j'ai préparé des émulsions à 5% phéniquées à 1% des différentes parties du système nerveux et puis j'en ai essayé le pouvoir immunisant sur des rats infectés d'abord de virus de rue par voie sous-cutanée, en leur injectant, comme à l'ordinaire, 2 c.c. par jour pendant 10—15 jours.

Les résultats obtenus furent les suivants:

1° Tandis que séparées, les suivantes parties, corps calleux, lobes olfactifs, nucleus caudatus, tubercoli quadrigemini, moelle allongée et moelle lombaire d'homme sain, ont donné des résultats complètement négatifs, en les essayant mêlées au contraire elles sauvèrent (comme fut capable de faire aussi l'émulsion d'encephal de lapin rabique) tous les animaux.

2° Le nerf sciatique d'homme normal, comme le nerf sciatique, le nervus vagus et le nerf sympathique de chien mort par rage furieux, se montrèrent complètement dépourvus de pouvoir immunisant.

Je reporte, par incident, que l'encephal de fœtus (5 mois âgé) de vache normale se montra même dépourvu de pouvoir immunisante.

Nachdruck verboten.

Sur l'influence de substances favorisantes et obstacolantes la leucocytose sur le pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi.**

Pour voir quelle influence exercent les substances favorisantes et obstacolantes la leucocytose sur le pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale contre la rage chez les rats, j'entrepris des expériences que, d'autre part, je dus accidentellement suspendre. Je me limiterai, pour cela, à reporter les peus et incertains résultats obtenus en me réservant de continuer en suite ces expériences.

Méthode de recherche. A des rats infectés préalablement de virus de rue par voie sous-cutanée, j'injectai 30 c.c. (2 injections par jour pendant 15 jours) d'émulsion de substance nerveuse normale 5% contenant ou le 5% d'aleuronat ou l'1% d'acide lactique et le 2% de glucose.

A d'autres rats j'injectai, au contraire, 30 c.c. d'aleuronat seul à 5%.

Voici les résultats obtenus:

Tandis que se sauva 1 seulement sur 3 des rats traités soit avec le mélange de substance nerveuse normale, soit de ceux traités avec aleuronat seul, s'en sauvèrent, au contraire 2:3 de ceux traités avec le mélange de substance nerveuse normale, acide lactique et glucose.

Les témoins moururent tous.

Il semblerait que l'aleuronat (favorisateur de la leucocytose) diminue le pouvoir immunisant de la substance nerveuse plus que l'acide lactique et glucose (obstacolateur de la leucocytose). Mais, je répète, le nombre de ces recherches est encore trop petit pour pouvoir tirer des conclusions à ce propos.

Nachdruck verboten.

Action de l'éther, de l'alcool, de la glycérine et de la vieillesse sur le pouvoir antirabique chez les murides de la substance nerveuse rabique et normale.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi.**

Par des précédentes expériences je ne pus pas trouver une différence entre le pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale et celui de la substance nerveuse rabique chez les murides; seulement en les soumettant au dessèchement ou en essayant la substance blanche et grise séparées, on aurait observé (dans une expérience mais contraincée par une autre) une légère supériorité exercée par la substance nerveuse rabique.

En se maintenant en moi, pour cela, toujours vivant le doute que la substance nerveuse rabique devait, même chez les murides, en certaines conditions, exercer un pouvoir immunisant supérieur à la substance nerveuse normale, j'instituais des autres recherches sur les deux substances nerveuses soumises à l'action de quelques substances chimiques tels que l'éther, l'alcool absolu et la glycérine ainsi que l'action même de la vieillesse en essayant l'émulsion pheniqué des deux substances 15 mois après leur préparation.

Méthode de recherche. A l'égard de l'éther et de l'alcool on émulsionne 10 g. de virus fixe et de substance nerveuse normale en 40 c.c. de ces deux substances, on ferme parfaitement et après 15 jours, éloignés les deux agents chimiques, on prépare les émulsions des deux substances à 5 %, pheniquées.

A l'égard de la glycérine on émulsionne 10 g. des deux substances nerveuses en 20 c.c. de glycérine neutre et après 15 jours on prépare les émulsions à 5 %, pheniquées.

Cela fait on essaye les différentes émulsions sur les murides infectés préalablement de virus de rue par voie souscutanée en injectant aux mêmes de 2 c.c. (rats) à 1/2 c.c. (souris) par jour pendant 10—15 jours.

Voici les résultats de ces quatres séries d'expériences instituées complexivement sur 107 murides.

1° Ether. La substance nerveuse normale soumise à l'action de l'éther diminue plus que la rabique de son propre pouvoir immunisant. En effet dans une première expérience tandis que la substance nerveuse rabique sauva le 70 % des souris, la normale en sauva seulement le 30 %.

Dans une seconde expérience, au contraire, instituée sur les rats, on observa une légère supériorité de la substance nerveuse normale. En effet tandis que la substance normale sauva le 42 % des rats, la substance rabique en sauva seulement le 28 %.

Quoi que ce soit, ne pouvant pas nier sa valeur à la première expérience on doit conclure pour une supériorité de la substance nerveuse rabique sur la normale, soumises à l'action de l'éther.

3° Alcool absolu. Des résultats plus décisifs donna cette substance en mettant en évidence une absolue supériorité de la substance nerveuse rabique sur la normale. En effet, sur 40 rats tandis que la

substance rabique en sauva le 53 %, la normale en sauva seulement le 16 %.

3° Glycérine. Une supériorité du pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique fut mise en évidence aussi par la glycérine: Tandis que la substance nerveuse rabique sauva le 40 % des rats, la normale n'en sauva aucun.

4° Action de la vieillesse. L'action de la vieillesse (c'est-à-dire de l'acide phénique 1 %, de l'eau, etc.) confirma encore la supériorité du pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique. En effet, tandis que celle-ci sauva le 50 % des rats, la substance normale en sauva seulement le 22 %.

Conclusions. Donc les quatres agents sousdits ont, comme on à vu, baissé fortement le pouvoir immunisant des deux substances nerveuses. En effet tandis que celles-ci, fraîches, sauvèrent le 100 % des animaux, traitées, au contraire, avec l'éther, en sauvèrent seulement le 28—70 % (substance rabique) et le 30—42 % (s. normale); traitées avec l'alcool 53 % (s. rabique); 16 % (s. normale); traitées avec la glycérine 40 % (s. rabique), 0 % (s. normale); soumises à la vieillesse 50 % (s. rabique), 22 % (s. normale).

Nachdruck verboten.

Gibt es ein antiendotoxisches Choleraserum?

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Breslau, Direktor Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von Dr. Marie Raskin, St. Petersburg.

Aus der großen Zahl der bei verschiedenen Krankheiten des Menschen und der Tiere in Vorschlag gebrachten Serumpräparate haben sich nur wenige bewährt und sind zurzeit mit mehr oder weniger großem Erfolg in den Arzneischatz nur diejenigen aufgenommen, welche entweder durch bakterizide Eigenschaften bei rein infektiösen (septikämischen) Erkrankungen, oder durch antitoxische Wirkung bei den durch sezernierte Gifte hervorgerufenen toxischen Bakterienkrankheiten einen Heileffekt ausüben können.

Bei denjenigen Krankheiten aber, deren Syndrom wesentlich durch solche Giftstoffe ausgelöst wird, die aus den zugrunde gehenden Bakterien stammen und erst bei der Auflösung derselben frei werden und zur Wirkung im Organismus gelangen, waren wir bis vor kurzem nicht in der Lage, die im Laufe der Infektion auftretende Vergiftung durch antitoxische Sera wirksam zu bekämpfen.

Es ist hinsichtlich dieser von R. Pfeiffer entdeckten und von ihm als Endotoxine bezeichneten Giftstoffe bis jetzt nicht gelungen, exakte Beweise zu bringen, daß sie, wie die sezernierten Toxine, im Körper neutralisierende Gegengifte auslösen.

Pfeiffer und seine Schüler haben zahlreiche Beweise geliefert, daß gegen Cholera immunisierte Tiere keine Widerstandsfähigkeit gegen das Gift des *Vibrio* besitzen, daß das Serum solcher Tiere nur bakterizide Eigenschaften aufweise, jedoch keine Antitoxine enthalte. Auch bei den

Versuchen mit Serum von Cholerarekonvaleszenten war es Pfeiffer nicht gelungen, auch nur Andeutungen von echter antitoxischer Wirkung festzustellen. Diese Behauptung Pfeiffers wurde von vielen Seiten bestätigt und als allgemein richtig anerkannt.

Man hat, auf diese Befunde gestützt, gegenüber den späteren Erörterungen Pfeiffers selbst, den etwas übereilten Schluß gezogen, daß eine heilende Wirkung von solchen Immunsera nicht zu erwarten, ja unter Umständen sogar eine Zunahme der Vergiftung zu befürchten wäre, indem durch die bakterienauflösenden Eigenschaften des Serums die plötzlich in größerer Menge frei werdenden, nicht neutralisierbaren Gifte desto gewaltiger ihre drohende Wirkung entfalten können.

In den letzten Jahren wurden Tatsachen veröffentlicht, die die Endotoxinlehre Pfeiffers in Zweifel zogen, und zwar nach zwei Richtungen hin.

So behaupten einige Forscher, bewiesen zu haben, daß der Cholera-vibrio und der Typhuserreger auch echte lösliche Toxine sezernieren, welchen als solchen antigene Eigenschaften zukommen, daß sie folglich im Organismus spezifische neutralisierende Antikörper auslösen können. In Filtraten von Cholerabouillonkulturen haben Metschnikow, Taurilli und Salimbeni, wie später auch Brau und Denier Giftstoffe gefunden, welche Meerschweinchen unter ganz ähnlichen Erscheinungen töten, wie sie bei der experimentellen Cholerainfektion beobachtet werden. Mit diesen Giftstoffen wurden Ziegen und Pferde behandelt, in der Hoffnung, dadurch wirksame Heilsera zu erhalten. Pfeiffer hält jedoch diese vermeintlich sezernierten Toxine für durch fermentative Prozesse abgebaute und dadurch löslich gewordene Bakterienleibsubstanzen, welche „zum originären Gift in demselben Verhältnis stehen, wie etwa die Peptone und Albumosen zu dem nativen Eiweiß“.

Andererseits haben später Kraus und seine Mitarbeiter, die oben erwähnten Befunde Metschnikoffs, Denier und Braus bestätigend, auch für die nur durch Autolyse der toten Bakterien frei werdenden Giftstoffe eine antigene Natur anerkannt, indem es ihnen angeblich gelungen sein soll, mit solchen gewaltsam von den Bakterienleibern getrennten und durch intensive Eingriffe in Lösung gebrachten Giften giftneutralisierende Sera herzustellen. Aus diesem Grunde sind nach Kraus die Endotoxine als echte Toxine aufzufassen, und gibt es zwischen ihnen und den sezernierten Toxinen keinen prinzipiellen Unterschied im Sinne Pfeiffers.

Dieser Auffassung hat sich offenbar auch Schurupoff angeschlossen, der, wie vor ihm Kraus, mittels eines frei hergestellten Endotoxins vor kurzem ein neues Serumpräparat erhielt, das er als antiendotoxisch bezeichnet und empfiehlt.

Die verschiedenen Bemühungen, antiendotoxisch wirksame Heilsera zu erzielen seitens derer, die wie Schurupoff im allgemeinen der Endotoxinlehre Pfeiffers beipflichten, kann man von zwei Standpunkten aus beurteilen.

Entweder sprechen wir den Endotoxinen prinzipiell die Fähigkeit ab, neutralisierende Gegenstoffe zu produzieren, gleichviel unter welchen Umständen, dann müssen wir alle Bestrebungen, antiendotoxische Heilsera zu erzielen, als grundlos, und die Bemühungen der Forscher, die Endotoxine als Impfstoff womöglich rein, von den Bakterienleibern getrennt zu erhalten, als ganz zwecklos erachten.

Andererseits wäre es aber auch denkbar, daß die Endotoxine bei der Loslösung aus dem Bakterienkörper durch Lyse im Tierorganismus oder durch künstliche gewaltsame Eingriffe (Zertrümmern, Gefrieren, Schütteln etc.) derartige tiefe chemische Umsetzungen eingehen, daß ihnen die Fähigkeit, neutralisierende Antikörper gegen die genuinen Giftstoffe auszulösen, abhanden kommt. Wissen wir doch aus den Versuchen von Friedberger und Moreschi, daß bei längere Zeit fortdauernder Autolyse der bei 60° abgetöteten Cholera vibrios die agglutinogenen und bei mehr gewaltsamen Eingriffen schließlich auch die lysogenen Gruppen zerstört werden und der so mißhandelte Impfstoff unwirksam wird.

Auf derartige Möglichkeiten hat Pfeiffer selbst auf der II. Tagung des freien Vereins für Mikrobiologie in Berlin 1908 hingewiesen.

„Es gibt bisher keine Methode, welche es gewährleistet, die Endotoxine unverändert frei von der Bakterienzelle zu erhalten. Dies gilt von den Extraktionsmethoden Mac Fadyens und Besredkas, wie auch für den die Autolyse verwendenden Methoden von Conradi und Neisser-Shiga, lauter Verfahren, bei welchen die Endotoxine teils durch chemische Mittel, teils durch die im Bakterienkörper enthaltenen Fermente tief liegende Umsetzungen erfahren.“

Pfeiffer hat niemals prinzipiell die Existenz echter Antiendotoxine geleugnet und auf die Tatsache hingewiesen, daß durch eine Injektion subletaler Cholera bakterienmengen schwer vergiftete Tiere sich in überraschend kurzer Zeit wieder zu erholen pflegen. Und weiter, in einem Aufsatz „Ueber die spezifischen Antikörper der Cholera“ (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. p. 216) wird die Möglichkeit von Antiendotoxinbildung mit folgenden Worten betont: „Ich will damit keineswegs behaupten, daß es überhaupt unmöglich sei, antitoxische Gegenstoffe gegen die Bakterienkörpergifte zu erzeugen.“

Wenn also den Endotoxinen die antigene Natur nicht prinzipiell abgesprochen werden kann, so sind die Bestrebungen, antiendotoxische Heilsera zu erzielen, gewissermaßen berechtigt. Es bleibt nur zu eruieren, inwiefern derartige Bemühungen bis jetzt von Erfolg gekrönt worden sind.

Von den nach verschiedenen Methoden gewonnenen, angeblich antitoxischen oder antiendotoxischen Heilseris gegen die uns hier ausschließlich interessierende Cholera stehen in letzter Zeit die Krausschen Sera und das neuerdings von Schurupoff hergestellte Präparat im Vordergrund des Interesses. Beide sind bereits einer Prüfung am Krankenbett während der zurzeit in Petersburg herrschenden Choleraepidemie unterzogen worden.

Kraus bezeichnet seine Sera als gleichzeitig bakterizid und antitoxisch, hat aber in seinen Versuchen, wie auch in der Beurteilung derselben deren bakteriolytischen Eigenschaften nicht genug Rechnung getragen, ja dieselben gar nicht berücksichtigt. Und doch haben Pfeiffer und Friedberger bei einer genauen Prüfung dieser Sera beweisen können, daß dieselben die Cholerainfektion lediglich durch ihren bakteriziden Anteil beeinflussen. Parallelversuche mit einem rein bakteriziden Kaninchenserum legten klar, daß die geringe antitoxische Wirkung, die die Krausschen Sera gegenüber den „nativen Endotoxinen“ besitzen, auch den rein bakteriziden Sera innewohnt.

Die geltende Ansicht, daß die bakteriziden Sera keinen Heileffekt ausüben können und daß für den Heilwert eines Serums nur sein Gehalt an Antitoxinen entscheidend sei, hält Pfeiffer für direkt falsch. Auch die bakteriziden Sera können unter Umständen einen nicht unerheblichen

Heileffekt ausüben, obwohl „demselben allerdings eine Grenze gestellt ist, sobald durch die Vermehrung der Bakterien im Körper so viel Endotoxin angehäuft ist, daß bei der durch die Einverleibung des Serums erfolgenden Auflösung der Bakterien eine Vergiftung des Organismus eintritt“.

Auf Grund der Feststellungen, daß die Krausschen Sera gegenüber den wirklichen Endotoxinen der Vollbakterien nicht anders wirken, als rein bakterizide Sera, hält Pfeiffer die Einwände von Kraus gegen seine Endotoxinlehre für widerlegt.

Nun hat aber Schurupoff vor kurzem in einem leider sehr lückenhaften Bericht¹⁾ ein neues Serum empfohlen, das angeblich gar keine bakteriziden Eigenschaften besitzen, dagegen aber ausgesprochen antitoxisch wirken soll.

Da bisher rein antiendotoxische, ohne jegliche bakterizide Nebenwirkung heilende Sera noch von niemandem angegeben worden sind und solch ein Präparat das größte theoretische wie praktische Interesse beanspruchen mußte, so nahm ich den Auftrag des Herrn Geheimrat Pfeiffer, das Serum einer näheren Prüfung in seinem Institute zu unterwerfen, sehr gern an und vollführte ihn auch unter seiner Leitung.

Ich nehme dabei Veranlassung, Herrn Geheimrat Pfeiffer für die freundliche Aufnahme, deren ich mich in seinem Institute zum wiederholten Mal erfreue, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Den zur Gewinnung seines Serums erforderlichen Impfstoff stellte sich Schurupoff aus 1½–2-tägigen Agarkulturen her, die er „einer Einwirkung von Lauge und einer nachfolgenden Behandlung mit Kochsalzlösung unterwarf“ (nähere Angaben fehlen). Mittels solchen sehr dürftig geschilderten Verfahrens gelang es, ein sehr (?) giftiges Endotoxin zu erhalten, indem 0,2–0,3 ccm desselben Meerschweinchen von 200 g Gewicht innerhalb 11–14 Stunden töteten.

Während weiter Verf. sehr ausführlich die kleinsten Einzelheiten betreffs der bekannten Vergiftungserscheinungen und Sektionsbefunde bei den vergifteten Tieren schildert, faßt er sich bezüglich des wichtigsten Teils seiner Arbeit, nämlich der Prüfung des Heilwertes des Serums verblüffend kurz, und berichtet darüber Wort für Wort folgenderweise:

„Meerschweinchen von 200 g Gewicht wurde das Serum in die Bauchhöhle in verschiedenen Mengen (0,5–0,3–0,1) injiziert und sodann nach 6–12 Stunden das Endotoxin, in genügender Menge, um ein Kontrolltier in 6–8 Stunden zu töten.

Die Prüfung der Heilwirkung des Serums wurde ebenfalls in der üblichen Weise an Meerschweinchen vorgenommen, d. h. die Tiere erhielten intraperitoneal eine tödliche Dosis des Endotoxins, darauf nach 1–3–6 Stunden Serum in Mengen von 0,1–0,3–0,5–1 ccm. Außerdem wurden Serum und Endotoxin gleichzeitig eingeführt.

Die Resultate der Prüfung waren folgende: 12 Meerschweinchen, welchen 6 Stunden vor Einführung des Endotoxins Serum in Mengen von 0,1–0,3 einverleibt wurde, erkrankten schwer, wurden aber alle wieder gesund, 18 Meerschweinchen, denen das Serum 12–18 Stunden vor Injizierung des Endotoxins eingeführt wurde, erkrankten in leichter Form. Bei gleichzeitiger Einführung von Serum und Endotoxin erkrankten die Meerschweinchen schwer, wobei die mit nur 0,1 fielen, die mit 0,3–0,5 behandelten gesund wurden. Mit 0,3–0,5

1) Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 623.

Serum 1 Stunde vor Einverleibung des Endotoxins behandelte Tiere erkrankten schwer, wurden aber wieder gesund. Bei der Behandlung der Tiere 3—6 Stunden nach Einspritzung des Endotoxins konnten nur diejenigen, welche 0,5 Serum erhielten, gerettet werden, obgleich nicht alle; von 12 solchen Tieren fielen 5.“

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse, aus denen ein deutlich anti-toxischer Effekt nicht recht zu ersehen ist, da kein einziges Tier der Vergiftung entging, die meisten sogar schwer erkrankten und viele untergingen, hält sich Verfasser für berechtigt, folgende Schlüsse zu ziehen:

„1) Die Immunisierung von Pferden durch Endotoxine zur Gewinnung eines Heilserums gegen Cholera stellt keine Schwierigkeiten dar.

2) Das von mir hergestellte Serum besitzt zweifelsohne Heilwirkung.

3) Das Serum ist gar nicht bakterizid und deshalb ist seine Einführung in den Organismus des cholerakranken Menschen, sogar in großen Mengen von keinen schädlichen Folgen begleitet.“

Schurupoff legt also einen großen Wert auf das Fehlen jeglicher bakteriolytischer Wirkung bei seinem Serum. Uns schien aber diese Angabe schon a priori etwas befremdend. Wissen wir doch aus früheren Versuchen von Pfeiffer, das schon normales Pferdeserum einen deutlichen Einfluß auf den Ablauf der intraperitonealen Cholerainfektion auszuüben vermag, und zwar dank einem nicht unerheblichen bakteriolytischen Effekt. Aber selbst von solchen, wenn auch geringen bakteriolytischen Eigenschaften fanden wir bei Schurupoff keine Andeutung. Es wird im Gegenteil ganz kurz betont, daß das Serum gar nicht bakterizid sei. — Andererseits zeigten Friedberger und Moreschi in zahlreichen Versuchen, daß bei mit eingreifenden Behandlungsverfahren einhergehender Abtötung der Choleravibrien die agglutinogenen Gruppen stets leichter und früher zerstört werden, als die lysogenen; in keinem der Versuche gelang es bei erfolgter Zerstörung der lysogenen Gruppen, die agglutinogene unbeschädigt zu verwahren. Das Schurupoffsche Verfahren der Immunisierungsgewinnung, das nichts weniger als schonend zu bezeichnen ist, würde uns aber das überraschende Beispiel eines ganz umgekehrten Verhältnisses liefern: Gänzlichen Verlust der lysogenen Gruppen bei so gut wie vollständig erhaltenen agglutinogenen, denn nach Angaben des Autors soll sein Serum bei gänzlichem Mangel von spezifisch bakterizider Kraft einen Agglutinationstiter von 1:10000 aufweisen.

Wir nahmen uns deshalb vor, zunächst die Richtigkeit dieses Verhaltens zu prüfen.

Wir sehen uns veranlaßt, die Anordnung der in dieser Richtung ausgeführten Versuche hier umständlich wiederzugeben, mit Rücksicht auf die ganz von den Angaben Schurupoffs abweichenden Ergebnisse, die wir erhalten haben.

Zur Prüfung der Bakterizidie bedienten wir uns zunächst El Tor-Kulturen, später aber auch echter Cholerastämme. Den Angaben von Kraus gemäß, die später vollinhaltlich von R. Pfeiffer und Friedberger bestätigt wurden, unterscheidet sich nämlich der El Tor-Vibrio von echten Cholerastämmen nur durch ausgesprochene Hämolyseproduktion und durch ein für Meerschweinchen höchst akut wirkendes Toxin. Bezüglich des serodiagnostischen Verhaltens (Agglutination, Pfeiffersches Phänomen) sind die beiden Arten voneinander nicht zu trennen. Der von uns verwendete El Tor-Stamm tötete in einer Dosis von $\frac{1}{20}$ Oese 200,0 Meerschweinchen innerhalb 20 Stunden.

Prüfung des bakteriziden Wertes des Serum Schurupoff gegenüber El Tor-Kulturen.

Meerschweinchen No. 2. 0,005 Schurupoff-Serum + 1 Oese 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Bouillon vermischt in die Bauchhöhle injiziert. Nach 20 Minuten sind, im Peritonealinhalt im hängenden Tropfen untersucht, nur Granula sichtbar. Nach 40 Minuten komplette Auflösung.

In dieser Verdünnung ($\frac{1}{1000}$) kann aber schon normales Pferdeserum bakterizid wirken. Es wurde daher mit der Titrierung weiter nach unten gegangen.

Meerschweinchen No. 3. 0,0005 Schurupoff-Serum + 1 Oese El Tor-Kultur. Ausgesprochene Bakteriolyse nach Verlauf von 30 Minuten. Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 4. 0,0001 Schurupoff-Serum + 1 Oese Agarkultur. Ausgesprochene Bakteriolyse nach $\frac{1}{2}$ Stunde. Trotzdem stirbt das Tier innerhalb 46 Stunden. Im post mortem entnommenen Peritonealexsudat sind keine Vibrionen nachweisbar, weder mikroskopisch noch auf Agarplatten.

Auf die Frage, weshalb das Tier trotz vollständiger Bakteriolyse gestorben ist, kommen wir noch später zurück.

Meerschweinchen No. 5. $\frac{1}{20000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Kultur. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde zahlreiche Granula, aber auch viele wohlerhaltene Vibrionen. Nach 1 Stunde schien die Bakteriolyse abgelaufen, doch gaben Aussaaten auf Agarplatten des nach 6 Stunden entnommenen Peritonealexsudats ziemlich viele El Tor-Kolonien. Nach 22 Stunden starb das Tier. Sektionsbefund: Im Peritonealexsudat spärliche Vibrionen, im Herzblut dagegen zahlreiche!

Meerschweinchen No. 6. $\frac{1}{20000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Kultur. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde zahlreiche bewegliche Vibrionen, spärliche Granula. Nach 19 Stunden stirbt das Tier. Im Peritonealexsudat fanden sich post mortem zahlreiche Vibrionen, im Herzblute spärliche.

Meerschweinchen No. 7. $\frac{1}{20000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Kultur. Nach 1 Stunde noch zahlreiche bewegliche Vibrionen. Nach 20 Stunden Tod. Bakteriologischer Sektionsbefund wie bei Meerschweinchen No. 6.

Aus den hervorgehenden Versuchen ist also ersichtlich, daß das anti-endotoxische Schurupoffsche Serum gegenüber frischen virulenten El Tor-Kulturen einen recht erheblichen bakteriziden Titer aufwies, den wir auf $\frac{1}{10}$ mg berechnen, da bei $\frac{1}{20}$ die Lyse unvollständig war.

Einen noch erheblicheren, sogar außerordentlich hohen bakteriziden Titer äußerte aber das Serum gegenüber echter Cholera-Stämme.

Wir benutzten zur Prüfung eine Kultur, die aus der vorjährigen Petersburger Epidemie stammte und von Prof. Sabolotny geliefert wurde. Dieselbe hat sich nach einer genauen differentialdiagnostischen Untersuchung als echter Cholera-Stamm herausgestellt, doch erwies sie sich zu wenig virulent. Ich suchte die Virulenz durch mehrfache Tierpassagen zu steigern, was nur sehr langsam erzielt wurde, so daß erst nach der 8. Passage $\frac{1}{6}$ Oese einer 20-stündigen Agarkultur 200,0 Meer-schweinchen innerhalb 20 Stunden zu töten vermochte. Während der Versuchsausführung bemühte ich mich zu wiederholten Malen, die Virulenz immer wieder durch Tierpassagen zu steigern, doch war sie nicht über $\frac{1}{7}$ Oese zu bringen.

Prüfung des bakteriziden Wertes des Serum Schurupoff gegenüber Cholera-kulturen.

Meerschweinchen No. 24. $\frac{1}{20000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese 24-stündiger Cholerakultur. Nach 45 Minuten ausgesprochene Bakteriolyse. Nach $1\frac{1}{4}$ Stunde alles aufgelöst.

Meerschweinchen No. 25. $\frac{1}{30000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Cholera-kultur. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde im hängenden Tropfen sowie in gefärbten Präparaten zahlreiche Granula, spärliche Vibrionen. Nach $\frac{3}{4}$ Stunden vollständige Bakteriolyse bis auf Granula. Nach $1\frac{1}{4}$ Stunden alles aufgelöst.

Meerschweinchen No. 26. $\frac{1}{50000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Cholera-kultur. Nach $\frac{3}{4}$ Stunden zahlreiche Vibrionen, fast keine Granula. Nach 3 Stunden vereinzelte Vibrionen, keine Granula. Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 31. $\frac{1}{100.000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Cholera-kultur. Nach 1 Stunde zahlreiche gut erhaltene Vibrionen, nur spärliche Granula. Nach 15 Stunden ganz vereinzelt Vibrionen. Nach 40 Stunden im Peritonealexsudat keine Spur von Vibrionen. Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 34. $\frac{1}{100.000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Cholera-kultur. Nach 1 Stunde keine Bakteriolyse. Nach $1\frac{3}{4}$ Stunden in gefärbten Präparaten gut erhaltene Vibrionen in geringer Zahl. Fast gar keine Granula. Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 35. $\frac{1}{100.000}$ Schurupoff-Serum + 1 Oese Cholera-kultur. (Vergl. No. 25.) ($\frac{1}{16}$ Oese dieser Kultur tötete ein Meerschweinchen von 200,0 innerhalb 18 Stunden.) Nach $\frac{1}{2}$ Stunde ausgesprochene Bakteriolyse. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde ist alles aufgelöst.

Wir sehen also, daß der bakterizide Titer des Schurupoffschen Serums mindestens $\frac{1}{30}$ mg beträgt, folglich als ungewöhnlich hoch zu betrachten ist.

Ich vermag nicht zu sagen, auf welche Fehlerquellen die von unseren Versuchsergebnissen als irrtümlich erwiesene Angabe Schurupoffs zurückzuführen ist, da in seinem Aufsatz leider das Prüfungsverfahren, die Versuchsanordnung usw. mit keiner Silbe erwähnt wird. Daß sich der Autor mit Bestimmung der Bakteriolyse im Reagensglas begnügt hat, ist kaum denkbar. Vielmehr erlaube ich mir die Vermutung auszusprechen, daß zur Gewinnung des Impfstoffes ein echter, zur Prüfung der Bakterizidie aber zufällig ein nicht einwandfreier Cholerastamm gedient hat.

Man könnte andererseits unsere eigenen Versuchsergebnisse in Zweifel ziehen und den von uns festgestellten hohen bakteriziden Titer auf nicht genügende Virulenz unseres Cholerastamms zurückführen. Doch wird solcher Einwand sofort hinfällig durch den Nachweis, daß ein im Institut befindliches Kaninchencholeraserum gegenüber demselben Stamm in mit den Hauptversuchen gleichzeitig angestellten Kontrollen einen Titer von nur 1:2000 aufwies.

In den soeben angeführten Versuchen über den bakteriziden Wert des Schurupoffschen Serums gegenüber Choleravibrionen ist die Tatsache bemerkenswert, daß auch bei unvollständiger Ausbildung des Pfeifferschen Phänomens, wie es bei Verwendung kleinster Mengen Serums ($\frac{1}{80}$ — $\frac{1}{100}$ mg) beobachtet wurde, die Tiere doch am Leben blieben. Es vermögen also verschwindend kleine Dosen des Serums Tiere vor Infektion zu schützen.

Worin ist aber der Grund einer so auffallend hohen Schutzwirkung des Serums zu suchen? Auf Phagocytose beruht sie jedenfalls nicht. Zwar traten in einem späteren Stadium der Versuche im Peritonealexsudat stets zahlreiche Leukocyten auf, doch sind sie offenbar belanglos, da die Vibrionen merkbar noch vor deren Auftreten schwanden und später in den Leukocyten keine Spur von Vibrionen wahrzunehmen ist. Die Vibrionen verschwinden einfach allmählich aus dem Peritonealexsudat, ohne deutliche Granulabildung und ohne von Leukocyten aufgenommen zu werden. Schon nach Verlauf von 3 Stunden nach der Einverleibung findet man die Zahl der Vibrionen bedeutend geringer, nach 15 Stunden sind sie nur spärlich vorhanden und nach 40 Stunden sind sie spurlos verschwunden.

Es kann dabei die nicht völlig normale Virulenz der Kultur eine Rolle spielen¹⁾, obwohl Kontrolltiere von bedeutend geringeren Dosen

1) In späteren in St. Petersburg ausgeführten Versuchen mit virulenten Kulturen hat sich diese Vermutung als richtig erwiesen.

derselben Kultur innerhalb 24 Stunden zugrunde gingen. Am nächsten liegt die Vermutung, daß doch die Bakteriolyse im Spiele ist, nur daß dieselbe bei kleinsten Serummengen sich sehr langsam vollzieht, die Vibrionen inzwischen sich aufs Netz niederlassen und daselbst allmählich zerstört werden. — Die Frage, ob in dem Serum vielleicht noch ganz andere, bisher unbekannte Kräfte stecken, welche dem infizierten Tiere zugute kommen, lasse ich dahingestellt.

Für obige Erklärung spricht, daß eine Schutzwirkung über die Grenze des ausgesprochenen Pfeifferschen Phänomens hinaus auch bei dem erwähnten bakteriziden Kaninchen festzustellen war. Da aber der bakterizide Titer dieses Serums sehr niedrig war, nämlich nur $\frac{1}{2}$ mg betrug, so hörte auch die Schutzwirkung bei Verdünnungen über 1:4000 auf.

Wie steht es aber mit dem antitoxischen Wert des Schurupoffschen Serums?

Nachdem es für uns zweifelsohne klar lag, daß letzteres, entgegen den Angaben Schurupoffs, einen hohen bakteriziden Titer besitzt, konnten wir mit der Prüfung des antitoxischen Wertes derselben Versuchsanordnung folgen, wie sie von Pfeiffer und Friedberger für die gleichartige Untersuchung der Krausschen Sera angewendet wurde.

Es wurden also Versuche gemacht, in denen durch Chloroform abgetötete Choleravibrionen mit Schurupoffschem Serum neutralisiert wurden und nebenbei Kontrolle, in denen an Stelle des Schurupoffschen Serums ein rein bakterizides Kaninchencholeraserum gesetzt wurde, das durch einmalige intravenöse Vorbehandlung mit bei 60° abgetöteter Kultur gewonnen wurde. — Wie Pfeiffer nämlich gezeigt hat, sind solche mit Chloroform abgetötete frische (24 Stunden) Cholerakulturen von deutlich toxischer Wirkung. Die Dosis letalis des von uns so hergestellten Toxins betrug bei intraperitonealer Einverleibung für 200,0 Meerschweinchen ca. 30 mg.

Wie Pfeiffer dies vorschreibt, haben auch wir in allen Versuchen die Körpertemperatur der vergifteten Tiere von Stunde zu Stunde verfolgt, um aus deren Verhalten ein sicheres Urteil über die Schwere der durchgemachten Vergiftung und etwaige antitoxische Serumwirkung zu bilden. — Der Verlauf dieser Versuche ist in Tabelle I veranschaulicht.

Tabelle I.

Versuche über die Neutralisation des Choleratoxins mit dem Serum Schurupoff und einem bakteriziden Kaninchenserum.

No. des Tieres	Menge des Toxins	Menge des Serums	Kontakt-dauer	Erfolg	Temp. vorher	Temperatur nach Stunden							
						1	2½	3½	4½	6½	7½	21	
Versuchsreihe mit Schurupoff-Serum													
13	0,060	1 ccm	20 Min.	lebt	37,8	38,6		36,0	35,5			38,0	
14	0,040	1 "	20 "	"	38,0	38,0		38,0		38,1			
18	0,060	1,2 "	20 "	† n. 10 Tagen	38,2	39,2	36,5	36,3	36,3	35,0	36,2	38	
19	0,080	1,2 "	20 "	Im Perit. sowie im Herzblut keine Vibr. nachw. Auß. steril	39,0	39,0	36,1	36,1	35,0	36		38,6	
Versuchsreihe mit Kaninchenserum													
15	0,040	1 ccm	20 Min.	lebt	37,4	39,0	36,5	37,0					
17	0,050	1,2 "	20 "	"	38,5	38,8	36,5		36,0	33,5	33,5	37,8	

Wir sehen nun, daß diese Versuche kaum zugunsten des Schurupoffschen Serums sprechen, eher könnte man aus ihnen das Entgegengesetzte folgern, denn von den 4 mit Schurupoff-Serum und 2 mit Kaninchenserum behandelten Tieren starb nach Verlauf von 10 Tagen nur eins, welches eine Mischung von 0,060 Toxin und 1,2 ccm Schurupoff-Serum erhalten hatte. Offenbar ging es an einer verspäteten Vergiftung ein. — Die Endotoxinvergiftung war bei allen Tieren durch Temperaturabfall gekennzeichnet.

In der folgenden Versuchsreihe wurde das Serum in verhältnismäßig größeren Mengen subkutan, das Toxin 14 Stunden später intraperitoneal einverleibt. Gleichzeitig wurden Parallelversuche mit dem bakteriziden Kaninchenserum ausgeführt.

Auch bei diesen Versuchen, wie aus beifolgender Tabelle II ersichtlich ist, war schwerlich ein Unterschied zugunsten des Schurupoffschen Serums zu merken. Ebenso wenig wie das Kaninchenserum war

Tabelle II.

Das Serum wird subkutan, das Gift 14 Stunden später intraperitoneal eingeführt.

No. des Tieres	Menge des Serums	Menge des Toxins	Erfolg	Temp. vorher	Temperatur nach Stunden								
					1	2½	3½	4½	6½	7½	19	21	27
Versuchsreihe C mit Schurupoff-Serum													
20	5 ccm	0,050	tot Perit. u. Blut steril	38,1	39,2	36,8	35,6	35,0	35,5	35,2		33,8	34,4
21	5 „	0,060	dgl.	38,0	39,4	35,4	34,5	32,5	33,0	32,5	tot		
Versuchsreihe D mit Kaninchenserum													
22	5 ccm	0,040	Tod In Perit., Leber und Herzblut zahlreiche Streptokokk. in Reinkult.	39,0	40,0	36,2	36,0	35,1	33,5	32,5	32,8		32

es imstande, die Tiere vor Vergiftung zu schützen. Alle 3 Tiere fielen unter schweren Vergiftungserscheinungen, wobei das eine von den mit Schurupoff-Serum behandelte Meerschweinchen No. 21 sogar um 10 Stunden früher als das mit dem Kaninchenserum behandelte einging. Zwar könnte man dagegen einwenden, daß letzteres eine geringere Dosis Toxin bekommen hat, jedoch muß dabei die durch die Sektion festgestellte allgemeine Streptokokkeninfektion berücksichtigt werden, denn, wie schon früher von Pfeiffer beobachtet wurde, sind irgendwie infizierte Meerschweinchen gegen das Choleratoxin besonders empfindlich.

Nebenbei sei bemerkt, daß in diesem Falle die Streptokokken aus dem Kaninchenserum stammten: Aussaaten des Serums auf Agarplatten ergaben ziemlich viele Streptokokkenkolonien. Da bekanntlich Meerschweinchen für Streptokokken aller Art sich refraktär verhalten, so lag der Gedanke nahe, eine besondere Art oder eine besondere Virulenz des betreffenden Stammes für den ungewöhnlichen Befund verantwortlich zu machen. Doch fielen zwei Versuche mit subkutaner Impfung ziemlich großer Dosen einer aus dem Blute von Meerschweinchen No. 22 herausgezüchteten Kultur negativ aus. Denkbar ist es, daß die Cholera-

intoxikation die den Meerschweinchen eigene natürliche Widerstandsfähigkeit gegen Streptokokken gelähmt hat.

Da anzunehmen war, daß in der vorausgegangenen Versuchsanordnung das Serum zur Zeit der Toxineinverleibung bereits zum Teil aus dem Körper ausgeschieden war, so wurde in einer späteren Versuchsreihe das Gift nur 4 Stunden nach subkutaner Vorbehandlung mit Serum intraperitoneal injiziert. (Tabelle III.)

Tabelle III.

Das Serum wird subkutan, das Gift 4 Stunden später intraperitoneal injiziert.

No. d. Tieres	Menge des Serums	Menge des Giftes	Erfolg	Temperat. vor Einspritzung des Giftes	Temperatur nach Einverleibung des Giftes nach Stunden							
					1	2 1/4	3 1/4	4 1/4	6	18	26	40
27	5 ccm Serum Schurupoff	0,040	lebt	39,8	38,0	37,0	35,0	34,1	36,0	36,0	38,0	39,0
28	5 ccm Kan.-Serum	0,040	lebt	39,0	36,8	35,1	34,2	34,0	36,2	36,3	38,1	38,9

Und wirklich blieben in diesem Versuche die Tiere am Leben, sowohl mit Schurupoff- als auch mit Kaninchenserum, jedoch nicht ohne deutliche Vergiftungserscheinungen geäußert zu haben, wobei diese bemerkenswerterweise bei den mit Schurupoff-Serum vorbehandelten Meerschweinchen ausgeprägter waren als bei den Kontrolltieren.

Es wurde weiter eine Anzahl von Heilversuchen gegen Cholerainfektion angestellt (Tabelle IV). Die Infektionsdosis betrug $\frac{1}{6}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur. Das Serum wurde nachträglich 2, 3 und 4 Stunden nach Einverleibung des Virus intraperitoneal injiziert. Der Zweck dieser Versuche war, festzustellen, ob es gelingen würde, die Tiere noch in einem Stadium zu retten, in dem die bakterizide Wirkung allein dazu nicht mehr ausreicht.

Tabelle IV.

Eine tödliche Dosis lebender Cholerakultur, nach 2 1/2 Stunden Serum intraperitoneal injiziert.

No. d. Tieres	Menge des Serums	Menge des Giftes	Erfolg	Temperat. vor Einspritzung des Giftes	Temperatur nach Einverleibung des Giftes nach Stunden							
					1	2 1/4	3 1/4	4 1/4	9	18	26	40
36	0,1 ccm Ser. Schurupoff	$\frac{1}{6}$ Oese Kultur	lebt	38,5	35,5		35,4		35,0	38,2	38,5	
37	0,2 ccm Ser. Schurupoff	$\frac{1}{6}$ do.	lebt	38,0	34,5	33,0	33,5	34,5		38,0		
38	0,1 ccm Kan.-Serum	$\frac{1}{6}$ do.	lebt		39,0	38,5	36,5	36,5	37,0	38,1		
39	0,2 ccm Kan.-Serum	$\frac{1}{6}$ do.	tot nach 50 Std.	39,1	36,0	30,5	33,0	33,5	35,2		36,8	

Auch in diesen Versuchen verhielt sich das Serum Schurupoff nicht anders, als das rein bakterizide Kaninchenserum. Das Serum

erwies sich als wirksam, wenn es 2—3 Stunden nach der Injektion eingeführt wurde, aber das Kaninchenserum wirkte ebenso, eher sogar besser. Der Effekt ist also lediglich als ein bakterolytischer aufzufassen. Der durch die Endotoxinvergiftung hervorgerufene Temperaturabfall blieb keinem bei Tiere aus. Wurde das Serum 4 Stunden nach der Infektion einverleibt, so gingen die Tiere zugrunde, die mit Kaninchenserum sowohl wie die mit Serum Schurupoff behandelten.

Tiere von 210—220 g.													
Tabelle V.													
No. d. Tieres	Dosis des Virus	Menge des Serums	Gegeben nach Stund.	Erfolg	Ablauf der Injektion	Temperatur nach Stunden							
						Vor der Einführ. des Giftes	Vor der Einführ. des Serum	1 1/2	2 1/2	4	6	16	24
40 1/6	Oese	0,2 Kan.-Serum	2	lebt	Vor Einführ. d. Ser. zahlr. Vibrionen. Nach 1 Std. nur Granula	38,0	38,2	38,0	37,9	37,8	38,0	38,1	38,0
40 1/6	"	0,2 Schurup.-Ser.	2	lebt	do.	38,0	38,1	38,0	37,0	37,6	38,0	38,1	38,2
42 1/6	"	0,5 Schurup.-Ser.	3	"	Vor Einführ. d. Ser. spärli. Vibrionen. Viel Leukoc.	38,0	38,1	36,0	36,8	36,5	38,0	38,0	38,0
43 1/6	"	0,5 Kan.-Serum	3	Tot. Perit. u. Blut mikr. steril. Auf Platten einz. Kolonteen	Wei b. No. 40	37,9	37,8	32,2	32,0	31,5	30,0	32,5	
44 1/6	"	1 cem Kan.-Ser.	4	Tod n. 36 Std. Perit. u. Blut steril	do.	38,1	36,2	34,0	32,0	31,5	33,0		
45 1/6	"	1 cem Schurup.-Serum	4	Tod n. 46 Std. perit. u. Blut steril. In Aussaaten viele Kolon.	do.	38,2	36,2	34,0	33,0	32,5	tot		

Es steht offenbar für den Ausfall dieser Versuche nur eine Möglichkeit der Deutung offen: Da die Sera keine Antitoxine enthalten und lediglich bakterizide Wirkung entfalten können, so vermögen sie die Tiere nur dann zu retten, wenn sie so zeitig einverleibt werden, daß die durch ihre auflösende Wirkung frei gewordene Toxinmenge die Dosis letalis

noch nicht erreicht hat. In einem späteren Stadium, in unserer Versuchsanordnung nach 4 Stunden, haben sich die Vibrionen so weit vermehrt, daß die durch das Serum entbundene Giftmenge schon genügend ist, um die Tiere unwiderruflich zu vergiften.

Anmerkung. Das Tier No. 42 in Tabelle V blieb am Leben, während das Kontrolltier fiel. Doch lag bei No. 42 offenbar eine Verletzung des Darmes bei der Infektion des Virus vor und gelang deshalb in die Bauchhöhle nur ein Teil der einverleibten Kultur, denn noch vor dem Einführen des Serums fanden sich im Peritonealexsudat nur spärliche Vibrionen.

Bekanntlich folgen die antitoxischen Sera dem Gesetze der Multipla, indem die Menge des Serum proportional der unschädlich zu machenden Giftdosis ist. Aus folgendem Versuche (Tabelle IV) ist ersichtlich daß das Serum Schurupoff diesem Gesetze nicht folgt, es ist sogar das Umgekehrte der Fall, wie von einem rein bakteriziden Serum auch zu erwarten war. Es haben sich bei der doppelten Dosis Schurupoff-Serum bei gleich großer Virusmenge und gleich großem Zwischenzeitraum die Vergiftungserscheinungen rascher entwickelt, wobei sie auch stärker ausgeprägt waren. Ganz ebenso verhielt sich das Kaninchenserum.

Schlußfolgerungen!

- 1) Das von Schurupoff als rein antiendotoxisch empfohlene Heilserum besitzt, entgegen den Angaben des Autors, einen außerordentlich hohen bakteriolytischen Titer.
- 2) Es ist gar nicht antiendotoxisch.
- 3) Es ist in bezug auf die Heilwirkung der Cholerainfektion bei Meerschweinchen eine Ueberlegenheit des Serums gegenüber den als rein bakterizid anerkannten Sera nicht zu erkennen.

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Methode zur Darstellung der Sporen und Struktur bei den säurefesten Bakterien¹⁾.

Von **L. v. Betegh** in Fiume.

In einer im vorigen Jahre veröffentlichten Arbeit (1) habe ich über eine neue und einfachere Modifikation der Gram-Methode berichtet. Ich resumiere hier kurz die erwähnte Abhandlung.

Die Originalmethode Grams hat im Laufe der Zeit verschiedene Modifikationen erlebt. Die Ursache war der Umstand, daß man bei der Originalmethode den Farbensniederschlag möglichst eliminieren wollte. Das ist erreichbar. So hat schon Günther (3) eine bedeutende Korrektur an der sehr wertvollen Methode gemacht. Desgleichen haben Unna (5), Kutscher (6), Nicolle (7), Weigert-Kühne (8), sehr genialerweise, Claudius (9) und in neuester Zeit Much (10) nennenswerte Modifikationen veröffentlicht. Unna (11) unterzog sogar das Verfahren einer chemischen Farbstudie, und kam zu dem Resultate,

1) Vorgetragen und Präparate vorgelegt in der Sitzung vom 15. März 1909 im Fiumaner Aerzteverein.

daß für die Gram-Methode nur die Rosanilinfarben, und zwar Gentianaviolett, Methylviolett und Viktoriablaufarben geeignet sind. Der wahrscheinliche Grund liegt nach Unna darin, daß die erwähnten Farben eine ausgesprochene Affinität zum Jod haben.

Nachdem auch ich eine analoge chemische Farbenstudie unternommen, kam ich zu dem Resultate, daß außer den erwähnten drei Farben auch Dahlia zur Darstellung der grampositiven Bakterien sehr geeignet ist. Zu diesem Zwecke fand ich folgende Lösung für äußerst empfehlenswert: Man löst in 20 g 95-proz. Aethylalkohol 2 g Dahlia chem. pur.; zu dieser Lösung setzt man 50 g destilliertes Wasser und 4—5 Tropfen konzentrierte Karbollsöl-Lösung. Dann wird fest geschüttelt und filtriert. Die Farbe ist sofort gebrauchsfertig.

Färbeverfahren.

a) Deckglaspräparate.

- 1) Dünner Aufstrich von in Wasser aufgeschwemmten Kulturen, oder Ausgangsmaterial; lufttrocknen, über der Flamme fixieren.
- 2) Färben 2—5 Minuten lang mit Dahliälösung bei Zimmertemperatur. Längeres Färben schadet nicht.
- 3) Wasserspülen.
- 4) Einwirkenlassen von Jod-Jodkaliumlösung (J. I. JK. 2. H₂O 100) einige Sekunden.
- 5) Differenzieren in Alkohol absolutus.
- 6) Wasserabspülen; trocknen, Kanada etc.

b) Schnitte.

Die Schnitte werden ebenso gefärbt, aber am Objektträger. Nach Beseitigung des Paraffins wird wie sub a gefärbt und Kontrastfärbung mit Pikrinsäure-Säurefuchsinlösung angewandt.

Diese Methode wurde speziell zur Erforschung der Entwicklung der säurefesten Bakterien ausgearbeitet. Bei der Färbung der Tuberkuloseeinkulturen fiel mir auf, daß sich die Sporen intensiv gefärbt haben. Desgleichen konnte ich mit dieser Methode die Auskeimung der Tuberkel- und Perlsuchtbacillensporen etc. im Gewebe verfolgen. Besonders charakteristisch ist aber die korallenähnliche Auflagerung der Sporen im Bacillenleibe selbst. Die Hülle ist in solchen Fällen meistens ganz blaß, zumal wenn man längere Zeit 5—10 Minuten mit Alkohol oder Alkoholaceton differenziert.

Unwillkürlich bot sich die Frage, ob nach dieser Methode gefärbte Bacillen nicht kontrastgefärbt werden können, nämlich die Sporen schwarz, die Hülle rot.

Das gelingt sehr einfach, wenn man nach der Differenzierung eine kurze kalte Nachfärbung mit gewöhnlichem Karbolfuchsin vornimmt. Die Hülle der Säurefesten ist rot oder venös, die Sporen schwarz, scharfkantig. Was ihre Form, Größe, Anzahl etc. anbelangt, so habe ich darüber in einer in diesem Centralblatte veröffentlichten Arbeit (12) schon geschrieben, und diese Resultate sind eine vollkommene Bestätigung der schon mitgeteilten Beobachtungen.

Dieses eigentümliche Verhalten der säurefesten Bacillensporen gegenüber der Dahliälösung lenkte meine Aufmerksamkeit auf die Frage der Tinktion derselben im Sputum und in nekrotischen Herden. Ich stellte nun den Satz folgendermaßen auf: Ist es wahr, daß die mit der gewöhnlichen Karbolfuchsinfärbung sichtbaren, ungefärbt bleibenden

Segmente in den sporulierenden Tuberkuloseerregern Sporen sind, dann müssen sie sich nach vorangegangener Karbolfuchsinfärbung mit der Dahliälösung unbedingt färben, und sich dementsprechend in rotgefärbter Bakterienhülle schwarze Sporen sichtbar machen. Es muß also eine vollkommene elektive Färbung zustande kommen. Und das ist ganz sicher erreichbar sowohl in Reinkulturen, als auch im Ausgangsmaterial, in nekrotischen Tuberkelherden, wo man neben den Bacillen eine ungeheure Menge von in- und extracellular gelegenen Sporen nachweisen kann. Das Färbeverfahren ändert sich nun für diesen Zweck, wie folgt:

1) Grundieren der säurefesten Bakterien resp. des Ausgangsmaterial-aufstriches mit gewöhnlichem Karbolfuchsin; fraktioniertes Erwärmen, nicht siedend lassen.

2) Wasserabspülen.

3) Dahliafärbung 2—3 Minuten bei Zimmertemperatur.

4) Wasserabspülen.

5) Jod-Jodkaliumlösung 10—15 Minuten.

6) Differenzieren in Alkohol-Aceton (bei Reinkulturen 55, bei Ausgangsmaterial 2:1), bis keine Farbe abgeht.

7) Wasserabspülen.

8) Beim Ausgangsmaterial Kontrastfärben mit 1-proz. wässriger Pikrinsäurelösung oder Malachitgrünlösung einige Sekunden.

9) Wasserspülen, Trocknen, Kanada.

Bei dieser Färbung, welche die genaue Struktur der Säurefesten zeigt, färbt sich die Hülle rot oder venös, die Spore schwarz. Besonders lehrreich sind die im Ausgangsmaterial gefärbten Bacillen, welche in rotgefärbter Hülle scharfkantige, kugelförmige, oder ovoide Sporen führen, die bald in der Mitte, bald endständig usw. sichtbar sind und welche vom Grundtone des Gewebes — gelb oder grün — kontrastreich abstechen. In unzählbarer Menge sind selbstredend die Sporen in- und extracellular sichtbar, welche auch dann nachzuweisen sind, wenn alle anderen Methoden versagen.

Es ist nun hiermit unzweifelhaft bewiesen, daß die in den säurefesten Bakterien sichtbaren, mit Karbolfuchsin ungefärbt bleibenden Teilchen weder Vakuolen, wie das verschiedene Forscher meinen, noch Degenerationsprodukte, wie das Kitasato glaubt, sondern Sporen sind, was übrigens durch die neuerdings veröffentlichten Untersuchungen von Gasis (15) auch bestätigt wird. Diese spielen in der Verbreitung der Krankheit eine wichtige Rolle, auf welchen Umstand v. Behring (10) die Aufmerksamkeit der Forscher gelenkt hat. Und ich stimme vollkommen v. Behring bei, daß man sich in Zukunft nicht mehr mit dem Nachweise des ziehlfärbbaren Tuberkulosevirus begnügen kann, sondern man müsse auch die „granuläre Form“ in Betracht ziehen. Dementsprechend unterzog ich viele Lymphdrüsen von evident tuberkulösen Rindern, welche auch makroskopische Tuberkelknötchen enthielten, ferner Lungentuberkulose in den verschiedensten Stadien bis zur Verkalkung einer vergleichenden Studie über den Gehalt an ziehlfärbbarem Tuberkulosevirus und Sporen und fand in ca. 20 Proz. der Fälle — ganz genaue numerische Daten werden bei der Veröffentlichung der Protokolle gegeben — säurefeste Stäbchen, dagegen aber mit dieser Methode in 100 Proz. die Sporen. Ich glaube, daß diese Befunde für die v. Behringsche Angabe eine kräftige Stütze sind.

Ganz unabhängig von mir kommt Fontes (14) mit seiner Methode zu ähnlichem Resultate. Diejenige Beobachtung aber, daß man auf Grund

dessen, daß die echten Tuberkuloseerreger arteriös, die Paratuberkulosebacillen dagegen venös tingiert sind, die Differenzialdiagnose gestellt werden kann, konnte ich leider nicht machen, obwohl ich mehr als 20 verschiedene Stämme untersucht habe. Ja ich fand sogar, daß wenn man z. B. die Dahliälösung längere Zeit — über 10 Minuten bis einige Stunden — auf die schon mit Karbolfuchsin grundierten Bacillen einwirken läßt, die rote Farbe mitunter vollständig verdrängt wird und sich die Bakterien (Frosch-, Fisch-, Schildkröte-, Vogeltuberkuloseinkulturen) dunkelblau oder mit einem Stiche ins Violett tingieren. Ganz ähnliche Verhältnisse traf ich bei einem Pferdetuberkulosestamme, welcher weder zum humanen noch zum bovinen, respektive Vogeltypus zugerechnet werden kann. Also nicht nur die Paratuberkulose, sondern auch die echten Tuberkulosebacillen können auch eine venöse Farbe annehmen.

Die übrigen Befunde von Fontes kann ich auch bestätigen.

Schlußfolgerungen.

1) Diese elektive Methode gibt einen genauen quantitativen und qualitativen Aufschluß über das Vorhandensein von säurefesten und anderen grampositiven Bakterien, seien es Reinkulturen oder Ausgangsmaterial.

2) Der Nachweis der mit der b-tolin-Methode dargestellten Sporen bei den Säurefesten wird durch die Elektivmethode in prägnanter Weise bestätigt.

3) Die Sporen der säurefesten Bakterien sind nicht säurefest.

4) Alle grampositiven Bakterien sind mit dieser Methode sicher darstellbar.

5) Bei der Diagnose der Tuberkulose (human, bovin, gallin etc.) kann die Ziehl'sche Methode allein nicht mehr als ausreichend betrachtet werden; zu diesem Zwecke muß auch eine spezifische Sporenfärbemethode (v. Betegh, Fontes, Much) in Anspruch genommen werden.

6) Die Diagnose der Tuberkulose kann mit dieser Methode in solchen Fällen positiv gestellt werden, bei welchen keine ziehlfärbbaren säurefesten Stäbchen nachzuweisen sind.

7) Zur Differentialdiagnose der Tuberkulose- und Paratuberkulosebakterien kann der arteriöse oder der venöse Tinktionsgrad allein nicht mit Sicherheit in Anspruch genommen werden; als feste Basis können nur die Strukturverhältnisse dienen.

Literatur.

- 1) Betegh, L., A Gramféle festési eljárás új, egyszerűbb módosítással. [Ueber eine neue und einfachere Modifikation der Gram-Methode.] (Közlemények az összehasonlító élet és kórtan köréből. Köt. 8. Fü. 2.)
- 2) Gram, Fortschr. d. Med. 1884. No. 6.
- 3) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie.
- 4) —, Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22. p. 174.
- 5) Unna, Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888.

- 6) Kutscher, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 18. 1889.
- 7) Nicolle, Annales de l'Inst. Pasteur. Vol. 9. 1895.
- 8) Weigert-Kühne, Fortschr. d. Med. 1887.
- 9) Claudius, Annales de l'Inst. Pasteur. Vol. 2. 1898.
- 10) Much, Tuberkulose. Bd. 5. 1907.
- 11) Unna, Monatschr. f. prakt. Dermat. Ergänzungsh. Bd. 1. 1887.
- 12) v. Betegh, Neue differentialdiagnostische Färbemethode etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. Heft 5.)
- 13) —, Ueber eine neue Methode zur Darstellung etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. Heft 3.)
- 14) Fontes, Untersuchungen über die chemische Natur etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. Heft. 3.)
- 15) Gasis, Ueber eine neue Reaktion der Tuberkulosebacillen etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 111.)

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Bahr, L., Die Resultate der Versuche zur rationellen Rattenvertilgung vermittelst Präparate des Laboratoriums, p. 441.</p> <p>v. Betegh, L., Ueber eine neue Methode zur Darstellung der Sporen und Struktur bei den säurefesten Bakterien, p. 550.</p> <p>Fermi, Claudio, Sur le pouvoir immunisant contre la rage chez les murides des diverses parties du système nerveux d'animaux enragés et sains, p. 536.</p> <p>—, Sur l'influence des substances favorisantes et obstacolantes la leucocytose sur le pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale, p. 537.</p> <p>—, Action de l'éther, de l'alcool, de la glycérine et de la vieillesse sur le pouvoir antirabique chez les murides de la substance nerveuse rabique et normale, p. 538.</p> <p>Frosch, P. und Bierbaum, K., Ueber eine durch den Bacillus septicaemiae anserum exsudativae (Riemer) bedingte Gänseseuche, zugleich ein</p> | <p>Beitrag zur Frage der Pseudoinfluenzabacillen, p. 433.</p> <p>Gallandat Huet, Rudolf Hendrik Johan, Samenbläschen als Virusträger, p. 477.</p> <p>Gengou, O., Du pouvoir auxilytique du sérum de cobaye normal, p. 515.</p> <p>Konrádi, Daniel, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa, p. 497.</p> <p>Neumann, R. O., Leishmania tropica im peripheren Blute bei der Dehliebeule, p. 469.</p> <p>Plehn, Marianne, Die Furunkulose-epidemie der Salmoniden in Süddeutschland, p. 468.</p> <p>Raskin, Marie, Gibt es ein antiendotoxisches Choleraserum? p. 539.</p> <p>Romanelli, G., Ueber inaktivierte Sera, p. 532.</p> <p>Streng, Osw., Agglutinin oder Konglutinin? p. 523.</p> <p>Xylander, Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtner-Gruppe, p. 455.</p> <p>Yakimoff, W. L., Die Zecken und Piroplasmen des Igels, p. 472.</p> |
|---|---|

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Nachdruck verboten.

Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen.

[Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der K. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli).]

Von Dozenten Dr. **Mario Truffi**,

Leiter der dermo-syphilopathischen Abteilung des Krankenhauses S. Paolo zu Savona (Genua).

Unlängst (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 597) habe ich einen positiven Befund von Uebertragung der Syphilis auf das Scrotum des Kaninchens mitgeteilt, und hierbei gezeigt, daß die Haut dieses Tieres dem syphilitischen Virus gegenüber mit den gleichen Erscheinungen reagiert wie die menschliche.

Seitdem ist die Literatur um keine weiteren einschlägigen Arbeiten reicher geworden. Soviel ich weiß, hat sich außer mir und Ossola niemand weiter mit der Frage beschäftigt.

In einer beachtenswerten, der italienischen Gesellschaft für Dermatologie und Syphilographie vorgelegten Mitteilung¹⁾ hat Ossola seine eingehenden Untersuchungen mitgeteilt. Aus denselben hat er schließen können, daß die Syphilis in Serien von Kaninchen auf Kaninchen übertragbar ist, daß bei solchen Uebertragungen das Virus keine Abschwächung erfährt, ja vielmehr an Virulenz zu gewinnen scheint, daß es beständig auch die Lymphdrüsen der inokulierten Gegend ergreift und daß die Infektion anscheinend dem Tiere eine Immunität gegen neue Impfungen zu verleihen vermag.

In derselben Sitzung hatte ich mitgeteilt, daß es mir gelungen war, das beim ersten Kaninchen erhaltene Syphilom sowohl am Scrotum als auch an der Cornea anderer Kaninchen mit Erfolg zu inokulieren.

Ich habe später meine Versuche fortgesetzt, und werde hier kurz darüber berichten, da mir manche der dabei erzielten Resultate besonders interessant erscheinen.

Mit dem Material aus einem bei meinem ersten Kaninchen durch direkte Einimpfung von menschlichem Virus erhaltenen Syphilom — zu einer Zeit, wo dieses bereits seit mehreren Tagen vernarbt war, habe ich inokuliert:

II. Serie.

a) Männliches Kaninchen, Gew. 2250 g. Inokuliert am 24. Sept. 1908. Am 5. Okt. machen sich an zwei symmetrischen Stellen des Scrotums schwache, hirsekorngroße Infiltrate bemerkbar, die nach mancherlei Veränderungen schließlich schwinden. Am 9. Nov. zeigen sich an den nämlichen Stellen oberflächliche Erosionen (zwei rechts und eine links mit schwach verhärtetem Grunde). Diese Erosionen nehmen in den nächstfolgenden Tagen an Größe zu, gegen den 20. Nov. sind dieselben nahezu pfenniggroß geworden mit gleichmäßigen, glatten Umrissen, ohne bemerkenswertes Infiltrat ihrer Grundfläche; ihr Aussehen erinnert mehr als an initiale Formen an die am menschlichen Scrotum so häufig anzutreffenden papulösen erodierten Syphilodermen. Im Detritus finden sich Spirochäten. Die Läsionen neigen ziemlich rascher Heilung zu; am 14. Dez. sind dieselben vollständig vernarbt, die Narbe ist bei der Palpation nur

1) Giorn. ital. d. malat. vener. 1909. Fasc. 1.

sehr schwach fühlbar. Nur einige Tage lang hat sich eine kleine Drüse in der linken Inguinalgegend palpieren lassen.

1. Juni 1909. Das Kaninchen ist noch immer am Leben: Gewicht ca. 2570 g.

b) Weibliches Kaninchen, Gew. 1800 g. Am 24. Sept. 1908 durch Skarifizieren der äußeren Genitalien und Einstich in die Cornealtaschen inokuliert. Am 5. Okt. werden zwei kleine erodierte Papeln an der Außenfläche der großen Lippe wahrnehmbar. Untersuchung auf Spirochäten negativ. Die Läsionen verschwinden rasch. Am 8. Nov. Anfang einer Infiltration an der linken Hornhaut.

Am 13. Nov. bilaterale Keratitis, stärker ausgesprochen links, wo bereits eine Gefäßneubildung deutlich hervortritt. Im Detritus des Abstrichpräparates der beiden Hornhäute zahlreiche Exemplare von *Spirochaeta pallida*. Die Läsionen gewinnen bedeutend an Stärke und verbleiben mehrere Monate hindurch.

III. Serie.

Mit aus den Scrotalläsionen des Kaninchens a gewonnenem Material — zu einer Zeit, wo erstere in Rückbildung begriffen waren — werden durch Skarifizieren an den Genitalien 3 Kaninchen geimpft:

c) Weibliches Kaninchen am 25. Nov. durch Skarifizieren an der Vulva und der linken Supraciliargegend inokuliert. Das Tier geht am 21. Dez. zugrunde. Keinerlei Läsion an den inokulierten Stellen.

d) Männliches graues Kaninchen, Gew. 1560 g. Inokuliert am 25. Nov. durch Skarifizieren an den Scrotaltaschen, an der Eichel und am Präputium.

Am 28. Dez. machen sich an den beiden skarifizierten Stellen des Scrotums skleröse Infiltrate — je eines beiderseits — bemerkbar. An der Eichel ist nichts zu sehen.

Ungefähr Ende Januar ulcerieren die Sklerosen in ihrem zentralen Teil; Grund und Ränder sind knorpelhart geworden; die Läsionen haben die Größe eines Zweicentimesstückes erreicht. An den Leisten lassen sich schwach vergrößerte Lymphdrüsen durchfühlen.

In den ersten Februartagen ist das Syphilom an der rechten Scrotalwand vernarbt, und es wird an dessen Stelle nur ein schwaches Infiltrat palpirt. Links besteht hingegen die Läsion noch immer fort; auch auf dieser Seite jedoch heilt gegen Mitte Februar die Ulceration und die Rückbildungsperiode nimmt ihren Anfang.

Bei Besichtigung des Kaninchens am 18. März findet sich jedoch, daß die bereits in Rückbildung begriffene Läsion ihre Tätigkeit wieder aufgenommen hat; der zentrale Teil ist abermals ulceriert, die Ränder treten stärker hervor und zeigen sich hart, sklerotisch. Das Zentrum der Läsion hat sich nach außen und oben hin verschoben. Ferner macht sich oben, etwas gegen die Mittellinie hin ungefähr 1 cm vom primären Syphilom entfernt und von demselben durch eine anscheinend gesunde Hautpartie getrennt, ein linsengroßes, skleröses, in seinem zentralen Anteil oberflächlich ulceriertes Knötchen bemerkbar. Ein ganz gleich aussehendes, aber etwas größeres Knötchen ist an der rechten Scrotaltasche anzutreffen; der Sitz desselben läßt sich von jenem des alten Syphiloms recht deutlich unterscheiden, und nur mit Mühe gelingt es, den Narbenrest dieses letzteren aufzufinden. Die beiderseitige Inguinaladenitis ist weit ausgesprochener als früher; beiderseits lassen sich mehrfache harte Drüsen palpieren. In der aus den beiden erwähnten Knötchen herausgepreßten serösen Flüssigkeit finden sich zahlreiche, blaßgefärbte *Spirochaetae pallidae* (Giemsa). Gewicht des Kaninchens 1780 g.

Am 28. März sind die beiden in Rede stehenden Knötchen sowie das Syphilom noch immer vorhanden. Im oberen Abschnitt der Hornhaut wird eine Trübung wahrgenommen, die das Bestreben zeigt, sich vom Limbus nach dem Zentralteil hin auszubreiten. Im Abstrichpräparat der Corneaoberfläche lassen sich mit Giemsa's Verfahren keine Spirochäten auffinden. In den darauffolgenden Tagen zeigt das Infiltrat das Bestreben, sich nach dem Zentrum der Hornhaut auszudehnen, wobei es vaskularisiert wird. Am 8. April hat die Läsion recht deutlich die Merkmale derluetischen Keratitis des Kaninchens angenommen; im Abstrichpräparat finden sich mit dem Paraboloid äußerst zahlreiche, typische, blasse Spirochäten. Seit einigen Tagen magert das Kaninchen rasch ab; sein Gewicht beträgt nunmehr 1450 g. Keine Hautläsion, außer in der Scrotalgegend, ebenso keine an den Schleimhäuten.

Nahezu verschwunden ist die Läsion im oberen Teil der linken Scrotaltasche, an der aber das initiale Syphilom noch immer ausgesprochen vorhanden ist. An der rechten Scrotaltasche sind noch immer die Merkmale der später aufgetretenen Sklerose recht deutlich erkennbar. Die rechte Hornhaut ist in ihrem oberen Abschnitt getrübt und von sehr auffälligen Gefäßen durchsetzt und durchzogen. Das Gewicht hat bis ungefähr 1600 g zugenommen.

Am 13. Mai sind die später aufgetretenen Erscheinungen fast gänzlich verschwunden. Dagegen nimmt die Keratitis an Stärke zu; das Infiltrat ergreift auch den unteren Abschnitt. Das ursprüngliche Syphilom ist in eine Periode starker Tätigkeit getreten; die Ulceration hat sich bis zur Größe eines Fünfcentimesstückes ausgebreitet; dieselbe ist eine tiefgreifende und haftet am unteren Hodenpol an; die Ränder sind hart, stark sklerös und überragen fast um 1 cm die umliegende gesunde Haut. Es macht sich eine gewisse Gewichtsverminderung bemerkbar (Gew. 1450 g).

18. Mai. Der Zustand des Kaninchens hat sich rasch verschlimmert; Hoden und Strang sind stark angeschwollen; das Tier geht zugrunde. Bei der Obduktion stellt sich ein Eiterungsherd heraus, der Hoden und Strang ergriffen hat und längs dieses letzteren bis zur Peritonealhöhle vorgedrungen ist: Diffuse Peritonitis mit fibrinösem Exsudat. In diesem letzteren finden sich sehr zahlreiche große, gewöhnlich reihenweise angeordnete, der Gram-Färbung widerstehende Bacillen. Keine Läsion der inneren Organe. Die Untersuchung auf Spirochäten in den verschiedenen Organen ist bisher negativ ausgefallen.

e) Männliches graues Kaninchen, Gew. 1450 g., inokuliert wie Kaninchen d am 25. Nov.

Am 28. Dez. machen sich an den Inokulationsstellen am Scrotum zwei eigentümliche skleröse Knoten bemerkbar.

Am 25. Jan. 1909 wird das rechtsseitige Syphilom exzidiert. Mit Hilfe der Methode von Volpino-Bertarelli werden darin zahlreiche Spirochäten aufgefunden. Leichte Inguinaladenitis.

Am 26. Febr. besteht links ein kleines Narbeninfiltrat. Die beiden Syphilome haben eine ganz kurze Ulcerationsperiode durchgemacht.

Am 30. April geht das Kaninchen ein, ohne sonst Bemerkenswertes 'gezeigt zu haben. Nichts Interessantes bei der Sektion.

Serie IV.

Mit Virus, das ich dem Kaninchen d) entnommen, habe ich nachstehende drei Kaninchen inokuliert. f) männliches Kaninchen, Gew. 1400 g, durch Skarifizieren am Scrotum beiderseits und am Penis (17. Jan. 1909) inokuliert.

Am 29. Jan. zeigt sich an der Stelle, wo die Einimpfung am Scrotum erfolgt ist, rechts eine weißlich gefärbte, harte Plaque von der Größe einer kleinen Linse. Positiver Befund von *Spirochaeta pallida*. Die Läsion scheint in den nächstfolgenden Tagen eine Besserung zu erfahren, bis sie schließlich fast gänzlich verschwindet. Hierauf tritt sie wieder zutage und, nachdem sie ungefähr 1 cm im Durchmesser erreicht hat, ulceriert dieselbe oberflächlich. Gegen Ende Februar ist dieselbe vernarbt.

11. April. Das Tier geht zugrunde; bei der Sektion nichts Nennenswertes.

g) Weibliches Kaninchen. Gew. 1250 g. Inokuliert durch Skarifikation an der Vulvarschleimhaut (17. Jan.)

Am 2. Febr. zeigt sich an der inokulierten Stelle ein leichtes, sich hart anführendes Infiltrat. Dasselbe wird in den darauffolgenden Tagen ungefähr um $\frac{1}{10}$ größer, das ist linsengroß, wobei es entschieden das Aussehen einer initialen Sklerose annimmt. Sodann schnürt es sich in seinem zentralen Teil ab und tritt hierauf in seine Rückbildungsphase.

Am 27. Febr. ist von der ursprünglichen Läsion keine Spur mehr aufzufinden.

h) Männliches Kaninchen. Gew. 1560 g.

Durch Skarifikation beiderseits am Scrotum inokuliert.

Am linken Scrotum erscheint am 29. Jan. ein kleiner, abgeplatteter, sklerotischer Knoten; am 8. Febr. ist derselbe halberbsengroß geworden; seine Größe nimmt rasch zu, so daß er am 26. Febr. bereits jene eines Zweicentimesstückes aufweist; multiple Adenitis in der linken Leistengegend; nichts Bemerkenswertes am rechtsseitigen Skrotum. 2. März. Am rechtsseitigen Skrotum, gegen den mittleren Teil hin, tritt ein kleiner sklerotischer Knoten auf.

18. März. Die rechtsseitige Sklerose hat $1\frac{1}{2}$ cm im Durchmesser erreicht und zeigt das Bestreben, sich gewissermaßen in den zentralen Teil einzuschieben. Beiderseitige Inguinaladenitis. Gewicht des Kaninchens 1680 g.

3. April. Die seit einigen Tagen ulcerierte Läsion am rechten Hodensack scheint zur Verheilung geneigt zu sein. Ausgesprochener ist hingegen die linksseitige geworden; dieselbe sieht wie ein echtes Riesensyphilom aus und ist zweifrankenstückgroß. Der Rand erhebt sich mehr als 1 cm hoch über die umliegenden Gewebe, ist hart, sklerös, am Schnitte weißlich gefärbt wie Narbengewebe; in der Mitte eine tiefe Ulceration mit ungleichmäßig gestaltetem Fundus.

10. April. Das Kaninchen geht zugrunde. Seit einigen Tagen war die rechtsseitige Läsion verschwunden; dagegen bestand noch immer die linksseitige, dieselbe adhärirte an den Nebenhoden.

Bei der Sektion fanden sich keine Läsionen von inneren Organen. Entsprechend der Zentralzone der Ulceration ist ein Infiltrat vorhanden, das die Haut an den Nebenhoden haftend macht; keinerlei Läsionen des Hodens, noch des Ausführungsganges, vergrößerte Drüsen an den Leisten.

An den Syphilomschnitten (Methode Volpino-Bertarelli) zahlreiche *Spirochaeta pallida*; in der ulcerierten Zone sind diese letzteren weit spärlicher; große Bacillen gleich den im Peritonealexsudat von Kaninchen d) beschriebenen.

Serie V.

Mit Material aus dem Syphilom von Kaninchen h wurden inokuliert:

i) Männliches Kaninchen. Gew. 1300 g.

Am 8. März am Hodensack bilateral inokuliert; am 28. März zeigt sich an den beiden Impfstellen je ein Knötchen.

7. April. Die Sklerosen haben unterdessen rasch an Volumen zugenommen; an beiden Leisten sind große Drüsen durchzufühlen. Positiver Spirochätenbefund.

14. April. Die beiden Infiltrate sind in ihrem Zentralkern ulceriert und haben ca. 2,5 cm im Durchmesser erreicht. Der Fundus ist hart, knorpelartig. Gewicht des Tieres 1350 g.

15. Mai. Die beiden Syphilome und die Adenitis sind noch deutlich sichtbar; das Tier ist stark heruntergekommen.

31. Mai. Das Kaninchen geht ein. Gew. 1050 g.

Die beiden Syphilome sind an die Vaginalis haftend geworden; zahlreiche Lymphdrüsen in der Inguinalfalte. Makroskopisch nichts Bemerkenswertes in den verschiedenen Organen.

l) Männliches Kaninchen. Gew. 1450 g; am 20. März bilateral am Scrotum inokuliert.

8. April. Skleröse Infiltrate an den Impfstellen. Positiver Spirochätenbefund.

20. April. Das Tier stirbt. Obduktion nicht möglich gewesen.

Mit Bruchstücken einer aus der rechten Inguinalhöhle von Kaninchen h) enukleierten Lymphdrüse wird inokuliert:

m) Männliches Kaninchen. Gewicht 1720 g. Die Fragmente werden am 20. März in Hauttaschen des Scrotums eingeführt.

Am 3. April macht sich an beiden Impfstellen je ein Knötchen bemerkbar.

16. April. Skleröse Plaques von der Größe einer großen Linse; beiderseits initiale Adenitis.

7. Mai. Im Reizserum der Syphilome zahlreiche blasse Spirochäten.

22. Mai. Das Kaninchen geht zugrunde. Bei der Sektion wurden die beiden Syphilome mit der Vaginalis verwachsen angetroffen. Zahlreiche hyperplastische Drüsen in den Inguinalhöhlen. Nichts an den inneren Organen.

Serie VI.

Mit dem Virus von Kaninchen i) wurden 4 weitere Kaninchen inokuliert; von diesen blieb nur eines am Leben.

n) Männliches Kaninchen. Gew. 1520 g.

Am 15. April beiderseits am Scrotum und am rechten Supraciliarbogen inokuliert.

Am 26. Mai sind bereits zwei winzig kleine Sklerosen am Scrotum sichtbar.

29. Mai. An der rechten Leiste läßt sich eine kleine Drüse palpieren.

16. Juni. Die Sklerosen haben die Größe eines Zweicentimestückes. Bilaterale Inguinaladenitis. Nichts in der Supraciliargegend.

Serie VII.

Mit Virus von n) werden am 3. Juni mehrere Kaninchen inokuliert.

Am 6. Juni beginnt die Bildung der sklerösen Infiltrate.

Aus den bisher mitgeteilten Untersuchungen ergibt sich, daß die Syphilis auf das Kaninchen übertragbar ist¹⁾. Durch subkutane Einführung von syphilitischem Virus läßt sich beim Kaninchen eine

1) Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen ist es mir auch gelungen, die Syphilis auf die Skrotalhaut von Meerschweinchen zu übertragen. (Vgl. die Zeitschrift *Biochimica e Terapia sperimentale*. T. 1. p. 373.)

Läsion erzeugen, die mit Rücksicht auf ihre makro- und mikroskopischen Merkmale dem Typus des menschlichen Syphiloms vollkommen entspricht. Die Läsion beginnt mit einem punktförmigen, weißlich bzw. schwach rötlich gefärbten Knötchen, das bei der Palpation den Eindruck eines harten, in der Haut sitzenden Körperchens hervorruft. Gewöhnlich nimmt das Gebilde sehr rasch zu, wobei auch dessen Konsistenz eine größere und dessen Erhebung über die umliegenden gesunden Partien, von denen es durch einen deutlich ausgeprägten Rand leicht zu unterscheiden ist, eine stärkere wird. Nach Verlauf einer mehr oder weniger langen Zeit scheint der zentrale Teil des Gebildes gewissermaßen einzusinken, wobei meistens eine offene, feuchte, bzw. mit adhärrierender Blutkruste bedeckte Kontinuitätstrennung zutage tritt. Die Ulceration kann sich selbst über die ganze Fläche der sklerotisierten Zone erstrecken; in der Regel bleibt sie, analog dem, was beim menschlichen Syphilom zu geschehen pflegt, eine oberflächliche; mitunter sinkt sie bedeutend ein, in welchem Falle die Ränder in die Tiefe hin- gewöhnlich schroff, in der äußeren Zone aber stark konvex erscheinen; der Grund zeigt sich schmutzig, ungleichmäßig überwuchert, mitunter kraterförmig gestaltet. In solchen Fällen habe ich für gewöhnlich im Verein mit der *Spirochaeta pallida* einen großen Bacillus angetroffen, der von der Haut aus, wo er schon an und für sich geschwürartige Erscheinungen hervorzurufen imstande ist, die tieferen Gewebe ergreift und für das Kaninchen tödliche Infektionen (aufsteigende Peritonitis längs dem Samenstrange) bedingen kann. Dieser Bacillus, dessen Studium ich näher zu verfolgen gedenke, hat eine bedeutende Größe; sehr häufig sind die einzelnen Individuen kettenartig angeordnet; er färbt sich nach Gram und läßt sich leicht auf Agar kultivieren.

Die Größe der infiltrierten Zone schwankt, wie dies übrigens beim primären menschlichen Syphilom der Fall ist, zwischen jener eines Stecknadelkopfes bzw. einer Linse und jener eines Zweifrankenstückes.

Histologisch zeigt die Läsion genau den Typus des menschlichen Syphiloms. Sie besteht aus einem lymphocytären und plasmacellulären Infiltrate mit vorzugsweise perivasalem Sitze. In den ulcerierten Partien sind mehr oder weniger in die Tiefe reichende Schichten von polymorphkernigen Leukocyten wahrnehmbar. Die Gefäße zeigen schwere Veränderungen ihrer Wände, namentlich des Endothels, welches verdickt und überwuchert erscheint, so daß es mitunter das Gefäßlumen gänzlich verstopft.

In jedem Falle wurden an den nach Giemsa gefärbten Präparaten oder an den in frischem Zustande mit Hilfe des Paraboloids untersuchten blasse Spirochäten nachgewiesen, mit ganz denselben Merkmalen wie die blaßfarbigen der menschlichen Syphilome.

In den nach Volpino-Bertarelli behandelten Schnitten von Knötchen sind die Spirochäten recht zahlreich vorhanden; stellenweise sind dieselben zu Haufen vereinigt, so daß sie die Struktur des Gewebes verdecken. Sie dringen in die Bindegewebsräume ein, selbst dort, wo eine histologische Veränderung überhaupt nicht nachweisbar ist. Gerade an diesen Stellen erscheinen ihre Umrisse am gleichmäßigsten und deutlichsten. In äußerst großer Menge sind diese Gebilde mitten unter den lymphocytären Infiltraten anzutreffen, doch sind sie hier minder scharf konturiert, mitunter fast fragmentiert; am reichlichsten vorhanden sind sie gewöhnlich in den perivaskulären Zwischenräumen, sowie in der

Dicke der Gefäßwände. Zuweilen ist es möglich, selbst im Lumen der Blutgefäße eine Anzahl davon wahrzunehmen.

- Die makro- und mikroskopischen Merkmale sprechen somit zugunsten einer Identität der beim Kaninchen erzielten Läsion (bei meinen Versuchen an der Haut des Scrotums, an den großen Lippen und am Supraciliarbogen) mit dem menschlichen Syphilom. Zwei Momente dürften hier die Identität der beiden Prozesse in noch höherem Maße bestätigen. Das eine betrifft die Inkubationsperiode der experimentell erzielten Läsion, eine Periode, die gleich jener der menschlichen Syphilis eine ziemlich lange ist. Dieselbe hat beim ersten Inokulationsversuche über 2 Monate, 45 Tage bei der zweiten Serie und ungefähr 30 Tage bei der dritten in Anspruch genommen; bei der vierten ist dieselbe auf 12 herabgesunken, um bei der fünften wieder auf 19—20 zu steigen (bei der Impfung mit Virus aus einer lymphatischen Drüse umfaßte sie nur 30 Tage); bei der sechsten Serie fiel sie wiederum auf 11 und stieg auf 13 bei der siebenten.

Bemerkenswert ist das bei einem Kaninchen der gleichen Serie beobachtete Vorkommnis. Bei demselben betrug die Inkubationsperiode des Syphiloms am Scrotum 11 Tage, jene des Syphiloms im Supraciliarbogen über einen Monat. Im allgemeinen ist aber die Annahme gerechtfertigt, es bestehe bei den verschiedenen Uebergängen des Virus eine Tendenz zur progressiven Verminderung der Inkubationsperiode. In dem Maße, als sich das Virus an die neue Lebensweise gewöhnt, steigert sich auch seine Virulenz und die charakteristischen Läsionen kommen rascher zustande.

Das zweite für die Identität der Hautläsion des Kaninchens mit dem primären Syphilom des Menschen sprechende Moment ist das Vorhandensein — auch beim Kaninchen — einer lymphatischen Adenitis der regionären Lymphdrüsen des Syphiloms.

Im Gegensatz zu Ossola bei seinen ersten Impfungen (Cornealvirus am Scrotum inokuliert), war es mir anfangs nicht gelungen, irgendwelche Mitbeteiligung der Inguinallymphdrüsen festzustellen. Diese Nichtübereinstimmung der Befunde erklärte ich damals mit der Annahme, daß in meinen Fällen das direkt dem Menschen entnommene Virus gezwungen war, sich einem neuen, für seine Entwicklung vielleicht minder günstigen Boden anzupassen und daher seine Wirksamkeit eine geringere sei. Allein von der dritten Serie ab habe ich auch bei meinen Kaninchen das beständige Vorhandensein einer Adenitis konstatieren können. In der Inguinalgegend — gewöhnlich beiderseits — gelingt es leicht, harte, bewegliche, dicht unter der Haut sitzende Drüsen von der Größe eines Hirsekorns bis zu jener einer halben Erbse in verschiedener Anzahl (1—4) zu palpieren.

Schon Ossola hatte blaßgefärbte Spirochäten im Gewebe der Drüse nachweisen können. Der Nachweis ist nun auch mir leicht geglückt, aber nicht das allein: Durch Impfung der Drüse habe ich auch spezifische Affekte hervorrufen und hierdurch das Infektionsvermögen des Virus in der Drüse nachweisen können (Kaninchen m).

Die Einimpfung der Syphilis bietet bei den ersten Versuchen mancherlei Schwierigkeiten dar, bei den späteren gelingt sie nahezu unfehlbar,

so daß es wohl gerechtfertigt erscheint, zu behaupten, es komme dem Kaninchen keine natürliche Immunität gegen die syphilitische Infektion zu, wie es schon für die Cornealinokulation nachgewiesen worden ist.

Allein nicht alle inokulierten Tiere reagieren mit gleich intensiven Erscheinungen auf das syphilitische Virus. Während es nämlich bei einigen zu imponierenden Sklerosen kommt, bringt man es bei anderen nur zu umschriebenen, einer raschen Spontanheilung zustrebenden Infiltraten.

Die, wie es scheint, dem Kaninchen nicht zukommende natürliche Immunität wird ihm dagegen durch eine, wenn auch schwache Infektion der Scrotalgegend verliehen, wie dies durch die nachstehend mitgeteilten Versuche erwiesen ist:

1) Beim ersten der mit menschlichem Virus vorbehandelten Kaninchen, zu einer Zeit, wo das Syphilom noch in Rückbildung begriffen war (24. Sept. 1908), habe ich in den Hodensack der entgegengesetzten Seite Gewebstückchen desselben Syphiloms eingeführt. Außer schwachen Reaktionserscheinungen kamen sonst an den inokulierten Stellen keine weiteren Manifestationen zur Wahrnehmung.

Am 26. Sept. wird mit dem einem menschlichen primären Syphilom entnommenen (Präputium), an Spirochäten reichen Reizserum eine Injektion in den linken Hoden vorgenommen. Mit Kratzmaterial desselben Syphiloms wurden durch Skarifikation am linken Hodensack und an der linken Hornhaut Inokulationen ausgeführt.

30. Nov. Schwache entzündliche perikeratitische Reaktion, Oedem und Ecchymosen am Scrotum.

18. Jan. 1909. Keinerlei spezifische Erscheinung an den Impfstellen, weder am Scrotum, noch an der Hornhaut.

Mit Virus vom Kaninchen d werden beiderseits am Scrotum und an beiden Hornhäuten Inokulationen vorgenommen.

3. April. Die Inokulation vom 18. Jan. ist erfolglos geblieben.

Mit Virus aus dem großen Syphilom vom Kaninchen h wird nochmals subkutan geimpft.

6. April. Negativer Erfolg. Die Inokulation am Scrotum wird mit Virus von Kanidchen n wiederholt.

2) Kaninchen a. Am 25. Jan., als die durch die erste Einimpfung erzeugten Läsionen nahezu gänzlich verschwunden waren, wird am Hodensack beiderseits mit Virus vom Kaninchen d geimpft.

3. April. Keinerlei Manifestation an den am 25. Jan. geimpften Stellen. Es wird die Einimpfung mit Virus von Kaninchen n wiederholt.

1. Juni. Resultat der Inokulation negativ.

3) Kaninchen e. Die durch die erste Einimpfung hervorgerufenen Manifestationen sind schon seit einiger Zeit geheilt. Am 3. April wird das Kaninchen mit Virus von Kaninchen h am Scrotum abermals geimpft.

30. März. Das Kaninchen stirbt, ohne irgendwelche, mit der zweiten Inokulation zusammenhängende Läsion gezeigt zu haben.

4) Kaninchen f. Zur Zeit, wo das durch die Inokulation vom 17. Jan. bedingte Syphilom auffällig zu werden beginnt, wird mit Virus vom Kaninchen d (demselben Virus, das bereits für die erste Inokulation verwendet wurde), am unteren Pol des linken Scrotums nochmals geimpft.

26. Febr. Am unteren Pole des linken Hodensackes zeigt sich ein geringes, linsengroßes, nicht ulceriertes Infiltrat; positiver Spirochätenbefund.

15. März. Das Infiltrat ist verschwunden, ohne deutliche Spuren zu hinterlassen.

5) Kaninchen h. Am 29. Jan. Impfung unter denselben Verhältnissen wie Kaninchen f.

15. März. Vollständig negativer Erfolg.

6) Kaninchen i. Am 20. April Inokulation in der Supraciliargegend, beiderseits mit Virus von Kaninchen m.

31. Mai. Das Kaninchen stirbt, ohne in der Supraciliargegend irgendwelche Läsionen gezeigt zu haben.

Will man nun das bisher Dargelegte zusammenfassen, so ergibt sich folgendes:

Nur in einem Falle ist es möglich gewesen, durch Reinokulation ein positives Resultat zu erzielen, und zwar bei Kaninchen f, wo die neue Einimpfung nur 12 Tage nach der vorhergehenden, positiv ausgefallenen stattgefunden hat. Diese erste Einimpfung hatte schon eine deutliche syphilitische Manifestation hervorgerufen. Die Konstatierung der Möglichkeit, daß beim Kaninchen das Virus in den ersten Tagen nach dem Auftreten des charakteristischen Syphiloms noch wirksam bleibt, darf nicht befremden, wenn man bedenkt, daß schon seit längerer Zeit für den Menschen und neuerdings für den Affen die Möglichkeit erwiesen wurde, daß eine neue Einimpfung nicht nur während der ersten Inkubationsperiode, sondern auch viele Tage (20) nach dem Auftreten des primären Syphiloms wirksam ist.

Ich bin gegenwärtig mit Untersuchungen beschäftigt, die dahin zielen, mit größerer Bestimmtheit festzustellen, wann die Hautimmunität eintritt.

Aber noch eine zweite Annahme dürfte mit Rücksicht auf das Ergebnis der mitgeteilten Versuche meiner Ansicht nach neben der soeben erwähnten gerechtfertigt erscheinen, und zwar die, daß eine syphilitische Infektion auf kutanem Wege dem Kaninchen eine absolute Immunität gegen neue Impfungen verleiht, und daß diese sowohl dem Uebergangsvirus als auch dem menschlichen gegenüber vorhandene Widerstandsfähigkeit sich nicht einzig und allein auf die Haut beschränkt, sondern sich auch auf die Hornhaut erstreckt.

Dieser Umstand verdient wohl hervorgehoben zu werden. Wie aus früheren Untersuchungen von Bertarelli, Uhlenhuth, Fontana, Ossola und den meinigen bekannt ist, erzeugt die corneale Inokulation, wenn einmal das spezifische Infiltrat verschwunden ist, nicht nur keine Immunität in der Hornhaut der entgegengesetzten Seite, sondern wahrscheinlich auch nicht in der erkrankten.

Auch bei Syphilis wäre somit in bezug auf Immunität das Verhalten ein anderes als das von Kraus und Volk für Vaccine angegebene; wird letztere bei Affen subkutan inokuliert, so wird damit keine Immunität der Cornea erzielt.

Die durch positive Impfung erzielte Immunität ist beim Kaninchen eine anhaltende. Beim ersten meiner Kaninchen besteht dieselbe noch jetzt, d. i. ein Jahr nach der ersten Inokulation.

Der Nachweis der Immunität bei den mit Syphilis subkutan infizierten Kaninchen hat mich veranlaßt, das Verhalten des Serums dieser Tiere der Wassermannschen Reaktion gegenüber zu untersuchen. Ich habe bereits Gelegenheit gehabt, über einige von mir in dieser Richtung angestellte Untersuchungen in der Sitzung der „Associazione sanitaria“ zu Mailand (1. März 1909) Bericht zu erstatten. Als Antigen hatte ich damals Extrakt von Meerschweinchenherz, als hämolytisches System ein für Rinderblutkörperchen hämolytisches Ziegenimmunserum sowie mit physiologischer Kochsalzlösung gehörig gewaschenes Rinderblut benutzt. Die Reaktion wurde an zwei bilateral mit schwerer Keratitis älteren Datums behafteten Kaninchen, wovon eines erfolglos an den Genitalien inokuliert worden, an sechs mit positivem Erfolg am Scrotum inokulierten (Ia, a, d, e, f, h) und an drei gesunden Kaninchen unter-

sucht. Bei sämtlichen mit Syphilis inokulierten Kaninchen fiel die Reaktion positiv aus; stark positiv war dieselbe bei den zwei mit Hornhautläsionen (a und f), minder stark bei den Kaninchen I, d, e und h. Bei 2 der 3 gesunden Kaninchen ist die Reaktion eine durchaus negative gewesen, beim dritten zeigte sich die Lysis bis zu einem gewissen Grade gehemmt. In Anbetracht dieses letzteren Befundes erschien mir einige Zurückhaltung über den meinen Versuchen beizulegenden Wert geboten. Ich habe daher das Bedürfnis gefühlt, dieselben unter geänderten Versuchsbedingungen zu wiederholen, indem ich nämlich als Antigen wässrigen Auszug von heredosyphilitischer Leber und als hämolysches System Kaninchen-Hundeserum und gewaschene Kaninchenblutkörperchen oder Ziegen-Kaninchenimmenserum und gewaschene Ziegenblutkörperchen verwendete. Die bei den auf cornealem bzw. subkutanem Wege syphilitisierten Kaninchen erzielten Resultate stimmen, mit Ausnahme einiger geringen Gradunterschiede, mit den früher erhaltenen überein. Eine positive Reaktion bekam ich auch mit dem Serum von i, l, m. Unter 8 gesunden untersuchten Kaninchen wurde bei 2 positive Reaktion erzielt und ebenfalls positive, wenn auch eine minder ausgesprochene Reaktion vermittelt des bei den ersten Versuchen angewandten hämolyschen Systems.

Diese Ergebnisse sind dazu geeignet, den Wert, den der positive Ausfall der Reaktion beim Kaninchen haben kann, herabzusetzen, doch ist hierbei nicht außer Acht zu lassen, daß bei sämtlichen inokulierten Kaninchen die Reaktion positiv ausgefallen ist. Dieser letztere Umstand ist neuerdings von Ossola — wenigstens was die subkutan infizierten Kaninchen anbetrifft — bestätigt worden (Società Medico-chirurgica di Pavia, Sitzung vom 7. Mai 1909).

Bei den corneal infizierten Kaninchen haben Schorcht und Bertarelli keine positiven Resultate erzielt; das Vorhandensein einer positiven Reaktion bei meinen Kaninchen kann vielleicht durch den Umstand erklärt werden, daß bei denselben die Läsionen von langer Zeit her datierten und eine bedeutende Intensität aufwiesen.

Auch habe ich das Serum einiger meiner Kaninchen auf das eventuelle Vorhandensein der Porgesschen Reaktion untersucht und die Ergebnisse davon der „Associazione sanitaria“ zu Mailand mitgeteilt. Ich hatte bei einem mit Keratitis behafteten Kaninchen und bei 3 subkutan inokulierten eine positive Reaktion erzielt; negativ fiel dagegen die Reaktion aus bei einem Kaninchen mit einem Syphilom am Scrotum, dessen Serum auf Wassermann intensiv reagiert hatte, sowie bei 2 gesunden Kontrolltieren.

Eine positive Reaktion habe ich später bei 2 anderen subkutan syphilitisierten Kaninchen, eine negative bei vielen gesunden angetroffen; nur bei einem derselben habe ich nach 24 Stunden einen geringen Niederschlag ermitteln können.

Der mit der Porgesschen Reaktion erzielte Prozentsatz ist im ganzen ein höherer als der bei der menschlichen Syphilis sich ergebende, ein Vorkommnis, das übrigens auch von Ossola bestätigt worden ist und auf das ich hier nur einfach hinweisen will, ohne nach dessen Ursachen näher zu forschen.

Wie verläuft die syphilitische Infektion bei dem subkutan inokulierten Kaninchen?

Erzeugt das Virus nur eine lokale Läsion und erschöpft es sich in loco, oder gelingt es ihm, in den Organismus einzudringen und sich darin zu verbreiten?

Eine präzise Lösung dieser Frage ist vielleicht noch nicht erzielbar. Doch dürfte, wie es scheint, der Gedanke an die Möglichkeit einer Generalisierung der Infektion kein ungerechtfertigter sein. Dafür sprechende Betrachtungen in dieser Richtung lassen sich auf Grund der Erscheinungen anstellen, die ich bei Kaninchen beobachtet und beschrieben habe.

So ist denn auch 110 Tage nach der Impfung, zu einer Zeit also, wo die durch die experimentelle Inokulation am Scrotum des Kaninchens erzeugten Läsionen in der Regel verschwunden bzw. im Schwinden begriffen sind, eine Steigerung des lokalen Prozesses zur Wahrnehmung gelangt, wobei, wie dies der positive Spirochätenbefund ergibt, an nicht experimentell inokulierten Stellen Veränderungen spezifischer Natur aufgetreten sind. Beim Kaninchen ist überdies noch ein entzündlicher Prozeß der Hornhaut aufgetreten, der in seinen objektiven Merkmalen den gewöhnlich durch Einführung des syphilitischen Giftes in der Vorkammer bzw. der Dicke des Hornhautgewebes hervorgerufenen Prozeß widerspiegelt, ein Prozeß, dem auch hier das Vorhandensein der *Spirochaete pallida* zugrunde liegt.

Welches ist nun die für die beiden erwähnten Vorkommnisse zulässige ätiologische Auffassung? Handelt es sich um Läsionen durch zufällige lokale Inokulation von syphilitischem Virus, oder aber um allgemeine, beim Kaninchen zutage tretende Manifestationen der Syphilis?

Mancherlei Momente könnten für erstere Annahme sprechen, so z. B. die Lokalisation der späteren Hautmanifestationen in unmittelbarer Nähe eines ulcerierten Syphiloms während einer beträchtlichen Periode seines Verlaufes, das Fehlen von Manifestationen an den Schleimhäuten und an der Haut anderweitiger Körperstellen, im Gegensatz zur Lokalisation an der Injektionen von außen her zugänglichen Hornhaut. Es ist ja immerhin denkbar, daß das Virus des ursprünglichen Syphiloms durch Abschilferungen der Scrotalhaut eingedrungen und eventuell vom Tiere selber in den Conjunctivalsack gebracht worden ist, und von da aus die Möglichkeit erlangt habe, die Hornhaut anzugreifen. Diese Annahme dürfte eine gewisse Stütze finden in einem von Bertarelli mitgeteilten Fall. Ein Kaninchen erkrankte nämlich an Keratitis mit Spirochäten, ohne daß man es experimentell inokuliert hätte, sondern nur einfach deshalb, weil es mit anderen, mit syphilitischer Keratitis behafteten Kaninchen zusammen geblieben war. Eine weitere, wenn auch nicht so unmittelbare Stütze würde für obige Annahme eine von Ossola gemachte Wahrnehmung liefern. Bei einem Kaninchen, dem vorher ein Syphilom exzidiert worden war, sah Ossola am Ende der Narbe einen das Hypodermis und das Dermis befallenden Knoten rezidivieren.

Selbst wenn man die Annahme einer spontanen Inokulation zulassen wollte, müßten wir in unserem Falle an der einer Autoinokulation festhalten. Unser Kaninchen ist ja beständig im Käfig geblieben, zusammen mit einem anderen gleichfalls mit positivem Erfolg gleichzeitig inokulierten, bei dem aber die Läsionen in rascher Heilung begriffen waren, so daß seit längerer Zeit keine Spur mehr davon vorhanden war.

Die Annahme einer spontanen Inokulation verstößt gegen die von mir und Ossola erwiesene Tatsache, daß die positive Einimpfung der Syphilis in die Haut des Kaninchens dem Tiere eine Immunität verleiht, die, den Ergebnissen der bisherigen Versuche zufolge, eine absolute ist. Als Anzeichen des Vorhandenseins einer solchen Immunität können die mit der Wassermannschen Reaktion bei den mit Syphilis infizierten Kaninchen erhobenen Befunde gelten.

Dieser Betrachtung gegenüber erscheint es doch wenigstens sonderbar, daß bei einem Kaninchen eine abermalige Infektion in voneinander so weit abstehenden bzw. unabhängigen Herden und unter weit minder günstigen Bedingungen als die der experimentellen Inokulation zustande kommen soll. Logischer erscheint vielleicht der Gedanke, daß die später am Scrotum aufgetretenen Läsionen sowie die Keratitis Manifestationen einer allgemeinen Infektion sind.

Zu gunsten einer Diffusion des Virus im Organismus des Kaninchens spricht ferner noch das konstante Vorhandensein der Spirochäten in mitunter vom Infektionsherde weit abliegenden Lymphdrüsen.

Der Fall ist übrigens in der Literatur kein vereinzelter. Ich brauche nur daran zu erinnern, daß Grouven (Niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilkunde, Sitzung vom 18. Mai 1908) bei einem endookulär inokulierten Kaninchen von den Schleimhäuten und der Cutis entfernt gelegene Läsionen bei Vorhandensein von Spirochäten hat nachweisen können und bei der Sektion spezifische Läsionen des Hodens und Nebenhodens bei positivem Befund von Spirochäten in diesen Organen, in Lymphdrüsen und Nieren angetroffen hat.

Ferner hat Neisser (Dermat. Zeitschr. 1908, No. 2) durch Einführung von infizierendem Material (innere Organe syphilitischer Affen) in die Hoden des Kaninchens eine Generalisierung des Virus in diesem Tiere erzielt. Einen Beweis dafür liefert der Umstand, daß die inneren Organe solcher so geimpften Kaninchen an der Haut von Affen das Auftreten spezifischer Syphilome bedingt haben.

Neuerdings (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 27), als ich meine Befunde der Medizinischen Gesellschaft zu Pavia bereits mitgeteilt hatte (Sitzung vom 7. Mai 1909), hat Mezinescu berichtet, er habe bei einem mit syphilitischem Virus in die Hodensubstanz inokulierten Kaninchen eine doppelte Keratitis mit Spirochäten angetroffen.

Die bisher angestellten Betrachtungen und besprochenen Erscheinungen berechtigen zur Annahme, daß beim Kaninchen die syphilitische Infektion nicht auf die Inokulationsstelle allein beschränkt bleibt, sondern sich auch im Organismus verbreiten kann. Einige Zurückhaltung ist aber hierbei noch immer geboten, und nur der auf Grund der histologischen Untersuchung und der experimentellen Inokulation durchgeführte Nachweis des Krankheitserregers in den inneren Organen wird dieselbe zu überwinden vermögen. Und eben dieser Nachweis ist bisher, was wenigstens die Inokulation auf subkutanem Wege anbetrifft, nicht erbracht worden. Auch zahlreiche von mir in dieser Richtung angestellte Untersuchungen (mikroskopische Untersuchungen nach Volpino-Bertarelli behandelter Fragmenten innerer Organe; Inokulationen von Brei dieser letzteren, namentlich von Leber, Knochenmark, Nebennieren, Milz) am Scrotum und an der Hornhaut sind bis jetzt vollständig negativ ausgefallen.

Nachdruck verboten.

Beiträge zum Entwicklungsgange der Sarcosporidien.

Von L. v. Betegh in Fiume.

Mit 2 Tafeln.

In einer Arbeit (1) über die Trypanosomen wird der Tinktion der Sarcosporidiensporozoiten mittels des Trichromins Erwähnung getan. Die Tinktionseigenschaften dieses Farbstoffes sind eben durch die Strukturdarstellung der Sporozoiten genau zu prüfen, und zwar, wenn das Protoplasma der sogenannten „Spore“ azurblau, das Chromatin der Kernsubstanz karminrot ist, dann ist der Farbstoff nicht nur zur Darstellung sämtlicher Sarcosporidienarten, sondern auch zum Studium anderer Protozoen, wie Trypanosomen, Malaria plasmodien usw. geeignet.

In der Literatur der Sarcosporidien ist die Frage der Struktur und des Entwicklungsganges der Sporozoiten ziemlich mangelhaft besprochen. Wasielewski (2) erwähnt zwar *S. tenella* (Raillet); die Beschreibung beschränkt sich aber mehr auf die Strukturverhältnisse der Schläuche — Pansporoblast — als auf die feinere Struktur der Sporozoiten. Van Eecke (3) beschreibt die Sporozoiten vom Rind, welche ihrer Form nach an die *S. tenella* erinnern. Doflein (4) sagt in seinem Werke, daß die Sporen nierenförmig sind und nach einzelnen Forschern — Van Eecke — sollen sie auch mitunter Geißeln haben. Er hebt aber ausdrücklich hervor, daß die Frage der Entwicklungsphasen noch weiterer Forschungen bedarf.

In letzter Zeit hat M. Koch (5) die Sarcosporidiensporozoiten der Maus eingehender studiert. Er erwähnt eine sehr wichtige Tatsache; er hat nämlich eine eigentümliche Rotation beobachtet, worüber wir noch unten sprechen werden. Außerdem scheint er gewisse Stadien der Entwicklung auch schon bemerkt zu haben, denn er sagt, „näher dem stumpfen Ende findet man in jedem einen rundlichen oder mehr ovalen, nicht die ganze Breite der Spore einnehmenden Abschnitt, welcher unregelmäßig gelagerte, oder in zwei Parallelreihen geordnete kleinere, oder größere, leuchtend rot gefärbte Körner, sogenannte Chromatinkörner, enthält. In vielen Sporen findet man keine einzelnen Körner, sondern der betreffende Abschnitt der Spore wird eingenommen von einem geweihtartig verästelten, längeren oder kürzeren Chromatinfaden. Ob diese Unterschiede von Bedeutung sind und worin diese bestehen und wie diese Kernstruktur sich aus den Kernen der Pansporoblasten herausbildet, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten werden“.

Von den neuesten Forschungen muß ich diejenigen von Negri (6) und von v. Rátz (8) hervorheben. Negri entdeckte den Entwicklungsgang der Sporozoiten bei *S. muris* und *S. Bertrami*. Vor dem Erscheinen der Negrischen Publikation befaßte ich mich längere Zeit mit der Untersuchung des Entwicklungsganges bei *S. tenella* und *S. Blanchardi*. Die Befunde meiner Untersuchungen bezüglich der Entwicklungsphasen decken sich beinahe vollkommen mit denjenigen von Negri, und kann ich die von Negri entdeckten Tatsachen auch bestätigen.

Die Arbeit von v. Rátz ist meines Erachtens die umfassendste und vollständigste Monographie dieser Protozoen. Außer der genauen Be-

schreibung sämtlicher bis jetzt bekannter Arten sind auch noch zwei neue Species entdeckt worden, und zwar *S. gracilis* Rátz n. sp. und *S. Horváthi* Rátz n. sp. Von *S. gracilis* Rátz haben wir folgende Beschreibung. „Die größten Schläuche sind 3–4 mm lang und sehr schlank, nur 0,55–0,3 mm dick. Die Gestalt ist spindelförmig. Die Sporozoiten sind 9–12 μ lang, 2,5–3,5 μ breit und sichelförmig; der Kern ist oval und liegt in der Nähe des abgerundeten Endes. Die Art lebt in den Muskeln des Rehs. Sie ist sehr häufig zu finden, und zwar in der Zunge, im Oesophagus und in den Kehlmuskeln. Manchmal waren sie so dicht gelagert, daß sie weiße Streifen bildeten. (*S. Horváthi* Rátz.) Die Schläuche sind 0,09–1,0 mm lang und 0,054 mm breit. Form und Längsschnitt eiförmig. Die Hülle ist sehr dünn. Das Ektoplasma wird sehr dicht von 1,8–2,7 μ langen, in der Mitte etwas dickeren kleinen Stäbchen mit abgestumpften Enden bedeckt, wodurch der Schlauch ein stachelartiges Aussehen erhält. Die Sporozoiten sind schlank, das eine Ende zugespitzt und sichelförmig gebogen; das andere etwas aufgedunsen und abgerundet. Im Innern ist ein ovaler Kern und ein kleines glänzendes, vakuolenartiges Körperchen sichtbar. Die Art wurde zuerst von Kühn gesehen, doch wird sie auch von Rivolta und Stile erwähnt. v. Rátz fand sie im Jahre 1903 in Orpington-Hühnern, woselbst sie aber nur spärlich vorkam. Das die Parasiten einschließende Muskelgewebe war fettig degeneriert.“

Die Monographie befaßt sich aber mehr mit der gründlichen Beschreibung der in der ungarischen Fauna bis jetzt bekannten Sarcosporidienarten, als mit der Frage des Entwicklungsganges der einzelnen Sporozoitenarten. Bei der Beschreibung der einzelnen Species finden wir auch die präzise Darstellung der Sporozoitenstruktur, und hier ist besonders das von v. Rátz entdeckte Körperchen zu erwähnen, welches vermutlich das Centrosom ist und welches ich auch unabhängig von v. Rátz gesehen und, wie wir unten sehen werden, weit ausführlicher beschrieben habe.

Manz (7) beschreibt in den Miescherschen Schläuchen die „Sporen“. Diese Beschreibung erinnert gewissermaßen an die verschiedenen Entwicklungsphasen, welche zuerst von Negri bei zwei Arten richtig beobachtet und beschrieben wurden. Negri erwähnt noch eine Arbeit von Laveran, welche sich mit der Struktur der *S. tenella* befaßt. Leider ist mir diese Arbeit nicht zugänglich gewesen.

Meine Untersuchungen beziehen sich nur auf die morphologischen und strukturellen Verhältnisse der Sporozoiten von *S. tenella* und *S. Blanchardi* in den verschiedenen Entwicklungsstadien. Bevor ich aber über den Gegenstand berichte, halte ich es für richtig, den Begriff der „Spore“ klarzustellen. Mit Ausnahme der Arbeit von v. Rátz, wird durchwegs von der „Spore“ geschrieben und gesprochen. Sporen sind vorwiegend bei den Bakterien bekannt, und unter diesem Begriffe pflegt man kleine ovoide, oder rundliche, lichtbrechende Gebilde zu verstehen, aus welchen unter günstigen Verhältnissen ein Bacillus auskeimt. Zufolge der Kleinheit ist bei den Sporen kaum von einer Struktur zu sprechen. Eine spezielle Eigenschaft der Spore ist die ausgesprochene Widerstandsfähigkeit gegen äußere, und zwar gegen chemische und physikalische Einflüsse; sie lassen sich schwer färben; wenn sie aber gefärbt sind, dann ist die Farbe schwer zu extrahieren. Bei den Protozoen und speziell bei den Sarcosporidien ist eine „Spore“, welche den Kriterien der

echten Sporen entsprechen könnte, noch nicht nachgewiesen worden. Die Benennung „Spore“ ist folglich meines Erachtens durchaus nicht berechtigt, und ich glaube, es ist richtiger, den Begriff „Sporozoit“ für die kleinste Fortpflanzungsform bei Protozoen zu wählen. v. Rátz gebraucht auch diese Benennung.

Die Untersuchungen wurden an ganz frischen Sarcosporidien, teils mit Dunkelfeldbeleuchtung, teils an mit Trichromin oder Giemsa's Lösung gefärbten Dauerpräparaten angestellt. Zu letzterem Zwecke wurden sie in Aethyl- oder Methylalkohol 5—10 Minuten fixiert. Die Sarcosporidienschläuche wurden aus den Muskelfasern freigelegt und mit scharfem Rasiermesser aufgeschnitten. Der rahmige Inhalt wurde vorsichtig auf Deckgläschen in dünner Schicht ausgebreitet. Uebereinanderlegen der Gläschen wurde vollkommen vermieden. Auf diese Art erhielt ich ganz unverletzte Sporozoiten. Das Verfahren von Negri, wo die Schläuche in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und die Sporozoiten zwischen zwei Gläschen verstrichen werden, gab mir weniger befriedigende Resultate. Mitunter sah ich total deformierte Sporozoiten, an welchen keine Struktur festgestellt werden konnte. Das schon erwähnte Verfahren aber fand ich einfacher und zweckmäßiger.

Das Trichromin (= drei Farben, rot, blau, violett zur Darstellung der Romanowsky-Färbung) stellt man sich auf folgende Weise her: Zu 100 g 1-proz. wässriger (destilliertes Wasser!) Methylenblaulösung (Höchst) setzt man 100 g 1-proz. wässrige (destilliertes Wasser!) Eosinlösung (franc. für Bakterienfärbung). Nach einigen Minuten entsteht ein schwarzblauer Niederschlag, welcher sich am Boden der Flaschen absetzt. Der ganze Niederschlag wird auf Filtrierpapier gesammelt und in 150 g 96-proz. Aethylalkohol gelöst. Er löst sich sehr leicht. Zu dieser Lösung gibt man 10 g polychromes Methylenblau nach Unna, 20 g Glycerin pur. und 10 Tropfen reine Karbolsäure. Die Farbe ist sofort gebrauchsfertig. Die Färbung geschieht derart, daß man von der Stammlösung zu 5 cm destilliertem Wasser (!) 2—5 Tropfen gibt. Kein Häutchen, kein Niederschlag. Die vorher in Alkohol fixierten Deckgläschen werden auf 10—20 Minuten gefärbt. Die Zeitdauer der Färbung hängt von der Konzentration der Stammlösung ab. Als Richtschnur sollte dienen, je feinere Struktur, desto längere Zeit in einer dünnen Lösung färben. Für jede Stammlösung muß ein für allemal die optimale Tinktionsfähigkeit festgestellt werden. Bei richtiger Dilution und Färbezeitdauer werden z. B. im Vogelblute die weißen Blutzellen violett, das Plasma der roten Blutkörperchen wird grünlich, die Kerne dagegen werden azurblau, eosinophile Granulationen rot. Bei den Trypanosomen wird der Körper lichtblau, Centrosom und Nucleus violett, Flagellum rot, undulierende Membran rötlich. Bei älteren Stammlösungen kann die Tinktionsfähigkeit durch Zusatz von 0,5-proz. wässriger Eosinlösung wieder hergestellt werden.

Sarcocystis tenella.

Für die Untersuchung mittelst Dunkelfeldbeleuchtung eignen sich besonders ganz frische, große Schläuche, welche schnell aus der Muskulatur freigelegt werden und von denen nach Aufschneiden des Pansporoblastes mit scharfem Rasiermesser vom rahmigen Inhalte mit der Platinnadel ein wenig auf den Objektträger gebracht wird. Die Sporozoiten werden

in der Lymphe der Schläuche ohne Beimengung jedweder Reagentien untersucht.

In solchen Präparaten sieht man sehr viele vollkommen intakte Sporozoiten, welche ringsherum eine lichtbrechende Zone sehen lassen. Beim ersten Anblicke glaubt man eine große Anzahl von sehr feinen Cilien vor Augen zu haben. Eine unzweifelhafte Lokomotion ist aber nicht nachweisbar. Auffallend ist aber die langsame Kontraktionsbewegung desjenigen Teiles, welcher kein Chromatin enthält. Manche Forscher berichten, eigenartige Bewegungserscheinungen beobachtet zu haben. M. Koch sah bei *S. muris* „ruckweise einsetzende, lebhafte, schraubenförmige Rotationen der Einzelspore um ihre Längsachse, die dieselbe auf gerader oder gewundener Bahn ihre Lage im Gesichtsfelde beträchtlich verändern ließen. Diese Bewegungen sind aber nur an dem einer eben getöteten Maus entnommenen Material wahrgenommen worden“. Van Eecke sagt: „diese Pseudonavicellen haben deutliche, zu jeder Zeit bestehende Eigenbewegungen, welche zum Teil fortschreitende, anderenteils rotierende sind und außerdem auch örtliche, an denen die kegelförmigen Enden hervortreten“. Nach L. Pfeiffer haben die Sarcosporidien des Schweines auch eine eigentümliche Bewegung; sie dehnen sich aus in einem Kreis mit kurzem Radius. Daß ich keine ausgesprochene Bewegung beobachten konnte, mag vielleicht dem Umstande zuzuschreiben sein, daß die Untersuchungen bei 20–24° C gemacht wurden mit einige Stunden altem Materiale. Doch konnte auch v. Rátz an bei 37–38° C tagelang hindurch gehaltenen Sporozoiten keine Eigenbewegung beobachten.

In der Mitte des Sporozoiten ist eine von dicht nebeneinander gelegenen Körnchen gebildete Zone, die zentrale Zone, welche lichtbrechend ist. Das Chromatin ist meistens ganz nahe am Ende des einen asymmetrischen Poles in einer kleinen blasenähnlichen, achromatischen Substanz. Geißeln, welche zu wiederholten Malen erwähnt worden sind — Van Eecke, v. Rátz — konnte ich nicht nachweisen. Zwischen den sichel-, halbmond- oder bohnenförmigen Sporozoiten fand ich kleine ovoide oder kugelförmige, lichtbrechende Gebilde, welche sich sehr lebhaft bewegten. Diese kleinen Gebilde haben eine große Ähnlichkeit mit den in der zentralen Zone sichtbaren Körperchen.

Ein ganz anderes Bild ist in Dauerpräparaten nachweisbar. Die jungen Sporozoiten sind geschmeidige, stark gebogene, asymmetrische Formen. Ihre Breite variiert zwischen 2,7–3,6 μ und ihre Länge zwischen 13,6–14,5 μ . Am mittleren Teile des Sporozoiten ist eine von gröberen Körnchen gebildete, dichte Zone sichtbar, welche mitunter auf der einen Hälfte des Sporozoiten sich in schräger Richtung hinzieht. Dieser Pol des Sporozoiten ist ganz homogen, ohne jedwede Struktur, jedoch etwas dünner als der entgegengesetzte Pol. Er endet mehr zugespitzt, der andere dagegen entschieden abgerundet. Dieser Pol dagegen ist etwas breiter, besitzt ein feinkörniges Plasma, dessen Körnchen aber kleiner sind als diejenigen der zentralen Zone. Sie färben sich graublau bis azurblau. In diesem Pole ist nahe dem Ende das rote Chromatin in einer vakuolenförmigen Blase in achromatischer Substanz eingebettet sichtbar. Wenn man nach vorhergehender Fixierung die Sporozoiten mit Löfflers Methylenblau färbt, tingiert sich die zentrale Zone intensiver, ferner derjenige Teil des Plasmas, in welchem das Chromatin

sitzt. Das Chromatin ist aber in diesem Falle ungefärbt und tritt noch deutlicher hervor.

In einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium sind die Sporozoiten plumper und dicker. Ihre Größe schwankt zwischen $5,4-6,3 \mu$ Breite und $16,2-18 \mu$ Länge. Die Chromatinsubstanz ist größer und die einzelnen Körnchen liegen weiter voneinander. Das Bläschen, welches das Chromatin trägt, reicht bis zur Mitte des Sporozoiten und hat bedeutend an Länge und Breite zugenommen. In diesem Stadium der Entwicklung findet man in dem anderen Pole ein sich mit Giemsa rosarot tingierendes, sehr feinkörniges Plasma.

Es ist eigentümlich, daß solche rötlich gefärbte Sporozoiten in demselben Präparate bedeutende numerische Schwankungen aufweisen. Es war bis jetzt nicht möglich, festzustellen, welcher Periode der Entwicklung diese hinzugezählt werden können, denn Gebilde, welche sich bereits in Teilung befinden, nehmen diese eigenartige Tinktion nicht an, ferner war es noch nicht möglich, nachzuweisen, ob überhaupt ein Zusammenhang zwischen dieser Tinktion und den Entwicklungsphasen des Sporozoiten besteht. Negri und v. Rátz beobachteten diese beschriebene Färbeerscheinung auch. In solchen Gebilden, wo sich die Chromatinsubstanz bedeutend vergrößert hat, enthält der betreffende Pol entweder spärliche, oder meistens gar keine Körnchen. Oft liegen die Chromatinkörnchen im Pole derart, daß man den Eindruck einer totalen Degeneration hat.

Manche Sporozoiten haben eine weit von diesem Bilde abweichende Struktur, so daß man mit vollem Rechte eine Zellteilung annehmen kann. Diese Sporozoiten sind immer gerade, eichelförmig, ohne Konkavität und an beiden Enden stumpf abgerundet. In beiden Polen ist eine sehr feine Körnelung sichtbar, welche tinktoriell der zentralen Zone sehr nahe steht. Am auffallendsten ist, daß sich das Chromatin in zwei Gruppen geteilt findet. Gegen das Ende des Poles ist oft noch eine Verbindung der Chromatinteile nachweisbar, wodurch V- oder Y-artige Bildungen entstehen. Als Endstadium dieser Chromatinteilung kann man diejenigen Gebilde betrachten, in welchen das Chromatin in zwei vollkommen getrennten, stäbchen- oder schlauchartigen Formen sichtbar ist, welche dann in der Mitte des Sporozoiten plaziert sind. Am Ende dieser Chromatinsubstanz sind bei gut gelungener Färbung 1—2 kleine, von einem lichterem Hofe umgebene Körnchen sichtbar, v. Rátz'sche Körperchen, welche mit meiner Gram-Modifikation und darauf folgender Löffler-Nachfärbung deutlich darstellbar sind. Diese Körperchen wechseln nicht nur ihre Lage bei der Chromatinteilung, sondern auch ihre Zahl. Den Entwicklungsgang derselben habe ich speziell bei *S. Blanchardi* minutiös beobachten können. Sehr oft sind dann ovoide Chromatingroupen sichtbar, welche im zentralen Teile des Sporozoiten liegen und zwischen welchen ein feines Septum nachweisbar ist. Es ist auffallend, daß weder Negri, noch v. Rátz die zentrale Zone erwähnen, obwohl diese auch mit der Giemsa-Lösung genau darzustellen ist, besonders bei jungen Sporozoiten. Ich untersuchte ferner massenhafte Sporozoiten in Schnitten in den Schläuchen selbst, konnte aber in jüngeren Schläuchen diese erwähnten Teilungen nicht mit Sicherheit beobachten. Die Sporozoiten sind in den peripheren Kammern der Schläuche zu finden; je näher dem zentralen Teile der Schläuche, desto weniger sind sie zu Gesichte zu bekommen. Diese polygonalen Kammern sind mit einer

homogenen Substanz ausgefüllt, in welcher mitunter auch isolierte Sporozoiten zu finden sind. Entlang der Kammerwand liegen rundliche, sich schwach färbende Hämalun oder Hämatein nach v. Apáthy kleine Gebilde, deren zentraler Teil sich kaum merklich intensiver tingiert. Ob diese Gebilde als eine Vorstufe der Entwicklung der Sporozoiten zu betrachten sind, lasse ich dahingestellt. Es fehlen nämlich die Uebergangsformen zwischen diesen und den schon beschriebenen Sporozoiten. Schließlich sind die kleinen kokkenförmigen Gebilde zu erwähnen, welche man auch bei Dunkelfeldbeleuchtung in ziemlich großer Menge sehen kann.

Sarcocystis Blanchardi.

Mit der Dunkelfeldbeleuchtung sieht man nicht mehr, als bei *S. tenella*. Jedoch sind die Sporozoiten etwas größer in allen Dimensionen. In gefärbten Dauerpräparaten — Trichromin oder Giemsa — findet man gebogene oder gerade, an beiden Enden abgestumpfte, asymmetrische Gebilde, welche von einer äußerst feinen Hülle, aus der Chromatinsubstanz, aus fein- und grobkörnigem Plasma und schließlich aus 1—2 lichtbrechenden Gebilden bestehen. Diese Körperchen sind identisch mit den v. Rátzschen Körperchen. Die Strukturverhältnisse der Sporozoiten stehen in direktem Zusammenhange mit ihrem Entwicklungsalter.

Die jungen Sporozoiten sind halbmondförmig gebogen. Der eine Pol ist abgerundet, und dieser enthält im feinkörnigen Plasma das dichte Chromatinhäufchen, welches ganz nahe am Ende in einer achromatischen Substanz eingebettet liegt. Das Chromatin ist rot; das Plasma blau, mit Trichromin gefärbt azurblau. Der entgegengesetzte Pol ist etwas zugespitzt. Ganz am Ende desselben ist oft eine dachförmige, in der Mitte dickere Linie sichtbar. Das Plasma des Poles ist ganz homogen; ich fand auch hier keine Struktur. Manche Forscher erwähnen eine linierte Zeichnung. Oft färbt sich dieser Pol nach Giemsa rötlich; dann kann man eine sehr feine Körnelung wahrnehmen. Gegen die Mitte des Sporozoiten grenzt dieser Pol an die sich schräg dahinziehende, grobkörnige, zentrale Zone. Die Grenze ist sehr scharf, im anderen Pol dagegen weniger prägnant, mitunter ganz konfluierend mit dem feinkörnigen Polplasma. In diesem Entwicklungsstadium sind die Sporozoiten 16,6—17 μ lang und 3,6—7,3 μ breit; andere Gebilde sind im Sporozoitenleibe nicht sichtbar. Erst wenn das Chromatin, welches anfangs beinahe entständig ist, sich gegen die Mitte des Sporozoiten zieht, sind 1, seltener 2 an der Grenze der zentralen Zone oder näher am Chromatin, meistens aber im mittleren Teile des Sporozoiten liegende kleine, scharfkonturierte Körperchen sichtbar, welche von einem schmalen, ungefärbten Hofe umgeben sind. Sie tingieren sich rötlich oder violett. Das ist höchstwahrscheinlich das Centrosom = v. Rátzsche Körperchen.

In einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium wird das Chromatin etwas derber, voluminöser und liegt der Mitte des Sporozoiten bedeutend näher. Die Konturen der Plasmakörnchen werden verschwommener, undeutlicher; die Körnchen der zentralen Zone sind seltener, mitunter zerstreut. Ziemlich viele Sporozoiten geben das beschriebene Bild. Bei manchen färbt sich das Plasma bedeutend heller, so daß man geneigt wäre, das als ein Degenerationsphänomen aufzufassen.

In vielen Sporozoiten ist eine unzweifelhafte Zellteilung nachweisbar. Diese Sporozoiten sind dementsprechend auch dicker als die schon geschilderten. Sie sind elliptisch, nie konkav, an beiden Polen ausgesprochen abgerundet. Die Chromatinsubstanz ist bedeutend vergrößert und entweder nahe oder auch ganz in der Mitte des Sporozoiten an der Stelle der zentralen Zone gelegen. In dieser Entwicklungsphase haben diese Gebilde 7,3—9,4 μ Breite und 16,2—18 μ Länge. Die Körnchen der zentralen Zone scheinen teilweise oder total in dem Plasma gelöst zu sein. Später findet man das Chromatin ganz in der Mitte des Sporozoiten, welches den ganzen mittleren Teil des Sporozoiten okkupiert hat; das körnige Plasma wird in die Pole verdrängt. Das Centrosom ist in diesem Stadium nicht oder nur selten an der lateralen Wand des mittleren Teiles des Sporozoiten sichtbar. Die Chromatinsubstanz teilt sich hier in zwei längliche Gruppen, und nun sind die kleineren Centrosomen, zwei an der Zahl, auf der Höhe der zentralen Zone wieder sichtbar. Die länglichen Chromatingruppen werden allmählich ovoider, und man kann später schon die achromatischen Substanzen, in welchen die eben geteilten Gruppen eingebettet liegen, genau unterscheiden. Ueberhaupt sind noch einige Teilungsphasen des Chromatins auch hier mit Bestimmtheit festzustellen, welche an ein V oder Y erinnern, und welche wir schon bei *S. tenella* gesehen haben. Die Teilungsphasen sind hier jedoch bei weitem schöner.

Wenn nun die geteilten Chromatingruppen ovoid geworden sind, dann kann man in der Längsachse des Sporozoiten die Bildung eines feinen Septums feststellen. Das Plasma, welches in die Pole verdrängt wurde, ist nun wieder mit der Körnelung in der Nähe der schon geteilten Chromatingruppen sichtbar. In dieser Periode kann man an den hyalinen Polen eine Spaltung beobachten, welche entlang des Septums zunehmend, zur vollständigen Teilung des Muttersporozoiten in zwei junge Individuen führt, in welchen eine vollkommen identische, symmetrische Struktur zu sehen ist.

Was die Strukturverhältnisse der Schläuche anbelangt, so ist das Bild dasselbe, wie bei *S. tenella*.

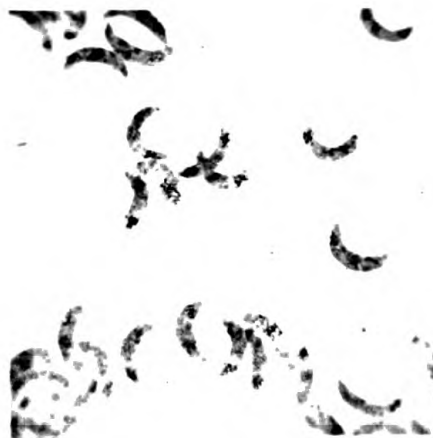
Literatur.

- 1) v. Betegh, L., Trypanosoma-tanulmányok. [Studien an Trypanosomen.] (Közlemények az összehasonlító élet és kórtan köréből. 1908.)
- 2) v. Wasielewski, Sporozoenkunde. p. 119—127.
- 3) Van Eecke, Jaarsverlag d. path. Inst. zu Weltewreden. 1892. p. 37—87. (Zit. nach Doflein.)
- 4) Doflein, Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. 1901. p. 214—225.
- 5) Koch, M., Ueber Sarcosporidien, p. 674—684.
- 6) Negri, A., Studien über Sarcosporidien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 56, 618.)
- 7) Manz, Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 3. 1867. p. 349. (Zit. nach M. Koch.)
- 8) v. Rátz, I., Az izmokban élősködő véglények és a magyar faunában előforduló fajaik. [In den Muskeln schmarotzende Protozoen und ihre in der ungarischen Fauna vorkommende Arten.] (Állattani Közlemények. Bd. 8. 1909. H. 1—2.)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000
1001
1002
1003
1004
1005
1006
1007
1008
1009
1010
1011
1012
1013
1014
1015
1016
1017
1018
1019
1020
1021
1022
1023
1024
1025
1026
1027
1028
1029
1030
1031
1032
1033
1034
1035
1036
1037
1038
1039
1040
1041
1042
1043
1044
1045
1046
1047
1048
1049
1050
1051
1052
1053
1054
1055
1056
1057
1058
1059
1060
1061
1062
1063
1064
1065
1066
1067
1068
1069
1070
1071
1072
1073
1074
1075
1076
1077
1078
1079
1080
1081
1082
1083
1084
1085
1086
1087
1088
1089
1090
1091
1092
1093
1094
1095
1096
1097
1098
1099
1100
1101
1102
1103
1104
1105
1106
1107
1108
1109
1110
1111
1112
1113
1114
1115
1116
1117
1118
1119
1120
1121
1122
1123
1124
1125
1126
1127
1128
1129
1130
1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145
1146
1147
1148
1149
1150
1151
1152
1153
1154
1155
1156
1157
1158
1159
1160
1161
1162
1163
1164
1165
1166
1167
1168
1169
1170
1171
1172
1173
1174
1175
1176
1177
1178
1179
1180
1181
1182
1183
1184
1185
1186
1187
1188
1189
1190
1191
1192
1193
1194
1195
1196
1197
1198
1199
1200
1201
1202
1203
1204
1205
1206
1207
1208
1209
1210
1211
1212
1213
1214
1215
1216
1217
1218
1219
1220
1221
1222
1223
1224
1225
1226
1227
1228
1229
1230
1231
1232
1233
1234
1235
1236
1237
1238
1239
1240
1241
1242
1243
1244
1245
1246
1247
1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263
1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273
1274
1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283
1284
1285
1286
1287
1288
1289
1290
1291
1292
1293
1294
1295
1296
1297
1298
1299
1300
1301
1302
1303
1304
1305
1306
1307
1308
1309
1310
1311
1312
1313
1314
1315
1316
1317
1318
1319
1320
1321
1322
1323
1324
1325
1326
1327
1328
1329
1330
1331
1332
1333
1334
1335
1336
1337
1338
1339
1340
1341
1342
1343
1344
1345
1346
1347
1348
1349
1350
1351
1352
1353
1354
1355
1356
1357
1358
1359
1360
1361
1362
1363
1364
1365
1366
1367
1368
1369
1370
1371
1372
1373
1374
1375
1376
1377
1378
1379
1380
1381
1382
1383
1384
1385
1386
1387
1388
1389
1390
1391
1392
1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406
1407
1408
1409
1410
1411
1412
1413
1414
1415
1416
1417
1418
1419
1420
1421
1422
1423
1424
1425
1426
1427
1428
1429
1430
1431
1432
1433
1434
1435
1436
1437
1438
1439
1440
1441
1442
1443
1444
1445
1446
1447
1448
1449
1450
1451
1452
1453
1454
1455
1456
1457
1458
1459
1460
1461
1462
1463
1464
1465
1466
1467
1468
1469
1470
1471
1472
1473
1474
1475
1476
1477
1478
1479
1480
1481
1482
1483
1484
1485
1486
1487
1488
1489
1490
1491
1492
1493
1494
1495
1496
1497
1498
1499
1500
1501
1502
1503
1504
1505
1506
1507
1508
1509
1510
1511
1512
1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525
1526
1527
1528
1529
1530
1531
1532
1533
1534
1535
1536
1537
1538
1539
1540
1541
1542
1543
1544
1545
1546
1547
1548
1549
1550
1551
1552
1553
1554
1555
1556
1557
1558
1559
1560
1561
1562
1563
1564
1565
1566
1567
1568
1569
1570
1571
1572
1573
1574
1575
1576
1577
1578
1579
1580
1581
1582
1583
1584
1585
1586
1587
1588
1589
1590
1591
1592
1593
1594
1595
1596
1597
1598
1599
1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608
1609
1610
1611
1612
1613
1614
1615
1616
1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636
1637
1638
1639
1640
1641
1642
1643
1644
1645
1646
1647
1648
1649
1650
1651
1652
1653
1654
1655
1656
1657
1658
1659
1660
1661
1662
1663
1664
1665
1666
1667
1668
1669
1670
1671
1672
1673
1674
1675
1676
1677
1678
1679
1680
1681
1682
1683
1684
1685
1686
1687
1688
1689
1690
1691
1692
1693
1694
1695
1696
1697
1698
1699
1700
1701
1702
1703
1704
1705
1706
1707
1708
1709
1710
1711
1712
1713
1714
1715
1716
1717
1718
1719
1720
1721
1722
1723
1724
1725
1726
1727
1728
1729
1730
1731
1732
1733
1734
1735
1736
1737
1738
1739
1740
1741
1742
1743
1744
1745
1746
1747
1748
1749
1750
1751
1752
1753
1754
1755
1756
1757
1758
1759
1760
1761
1762
1763
1764
1765
1766
1767
1768
1769
1770
1771
1772
1773
1774
1775
1776
1777
1778
1779
1780
1781
1782
1783
1784
1785
1786
1787
1788
1789
1790
1791
1792
1793
1794
1795
1796
1797
1798
1799
1800
1801
1802
1803
1804
1805
1806
1807
1808
1809
1810
1811
1812
1813
1814
1815
1816
1817
1818
1819
1820
1821
1822
1823
1824
1825
1826
1827
1828
1829
1830
1831
1832
1833
1834
1835
1836
1837
1838
1839
1840
1841
1842
1843
1844
1845
1846
1847
1848
1849
1850
1851
1852
1853
1854
1855
1856
1857
1858
1859
1860
1861
1862
1863
1864
1865
1866
1867
1868
1869
1870
1871
1872
1873
1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025
2026
2027
2028
2029
2030
2031
2032
2033
2034
2035
2036
2037
2038
2039
2040
2041
2042
2043
2044
2045
2046
2047
2048
2049
2050
2051
2052
2053
2054
2055
2056
2057
2058
2059
2060
2061
2062
2063
2064
2065
2066
2067
2068
2069
2070
2071
2072
2073
2074
2075
2076
2077
2078
2079
2080
2081
2082
2083
2084
2085
2086
2087
2088
2089
2090
2091
2092
2093
2094
2095
2096
2097
2098
2099
2100
2101
2102
2103
2104
2105
2106
2107
2108
2109
2110
2111
2112
2113
2114
2115
2116
2117
2118
2119
2120
2121
2122
2123
2124
2125
2126
2127
2128
2129
2130
2131
2132
2133
2134
2135
2136
2137
2138
2139
2140
2141
2142
2143
2144
2145
2146
2147
2148
2149
2150
2151
2152
2153
2154
2155
2156
2157
2158
2159
2160
2161
2162
2163
2164
2165
2166
2167
2168
2169
2170
2171
2172
2173
2174
2175
2176
2177
2178
2179
2180
2181
2182
2183
2184
2185
2186
2187
2188
2189
2190
2191
2192
2193
2194
2195
2196
2197
2198
2199
2200
2201
2202
2203
2204
2205
2206
2207
2208
2209
2210
2211
2212
2213
2214
2215
2216
2217
2218
2219
2220
2221
2222
2223
2224
2225
2226
2227
22



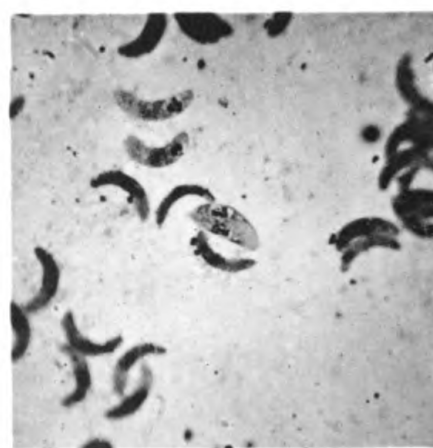
1



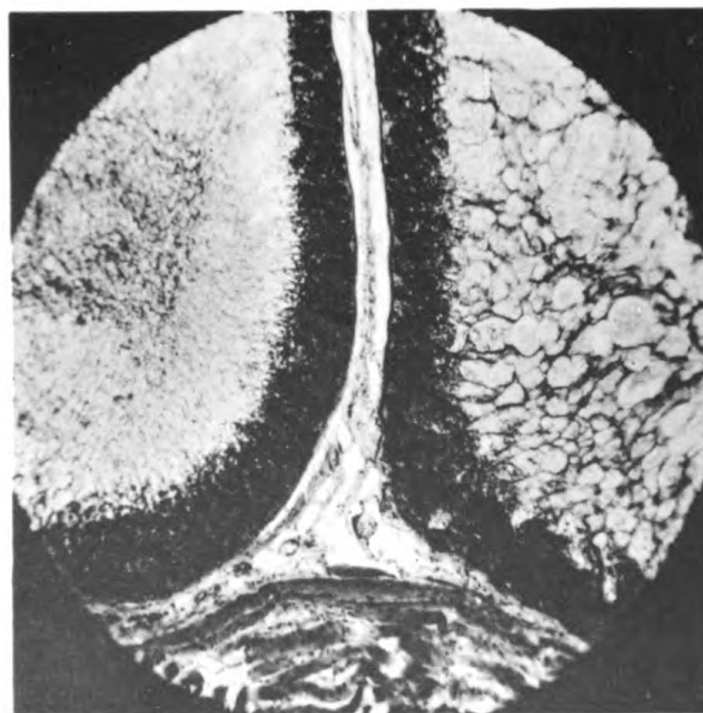
2



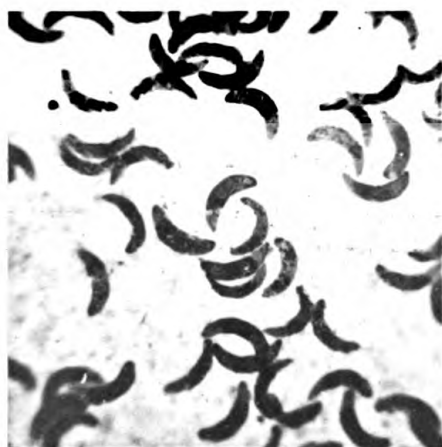
3



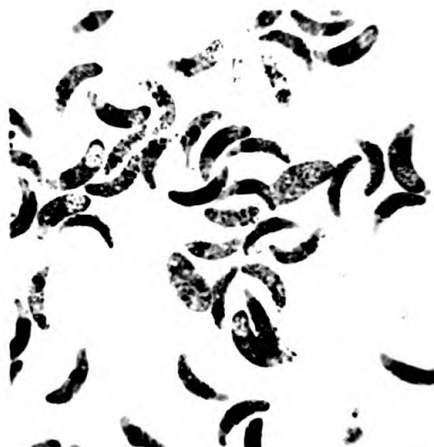
4



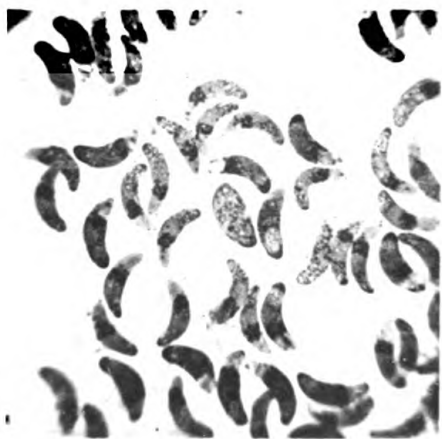
5



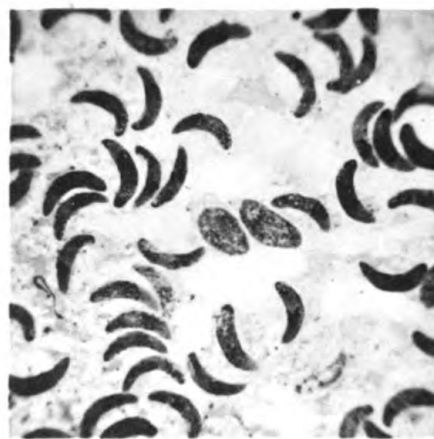
6



7



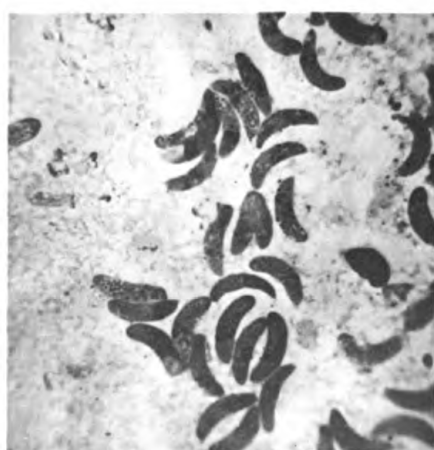
8



9



10



11

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Tafelerklärung.**Tafel I.**

1) *Sarcocystis tenella* Raill. Junge Sporozoiten; das Chromatin ist ganz endständig; die zentrale Zone ist dicht. Rechts ist ein Sporozoit, welches in einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium ist.

2) Desgleichen. Die Sporozoiten sind aber entwickelter; das Chromatin ist in den dickeren Sporozoiten näher dem Zentrum gerückt, und es ist an ihm eine bedeutende Vergrößerung sichtbar. In einzelnen Sporozoiten kann man das Chromatin in einer achromatischen Substanz eingebettet sehen.

3) Desgleichen. Zwischen den schmalen, stark gebogenen jungen Formen ist ein dicker Sporozoit zu sehen, in welchem das Chromatin im Zentrum des Sporozoiten liegt und in zwei keulenförmige Gebilde geteilt ist. Am oberen Ende des Chromatins ist das Centrosom.

4) In der Mitte liegt ein dicker Sporozoit, in welchem das Chromatin, im Zentrum liegend, in zwei ovoide Gruppen getrennt dicht an der lateralen Wand des Sporozoiten sichtbar ist. Die Chromatinhäufchen liegen in einer achromatischen Substanz, zwischen denselben ist eine dünne Trennungslinie wahrzunehmen. 1—4 Trichrominfärbung; Deckglasdauerpräparate; $\frac{1}{12}$ hom. Immers. Ok. IV.

5) Desgleichen. Schnitt aus dem Oesophagus eines Schafes. Zwei nebeneinander liegende Schläuche; an der Peripherie sind die dicht gelegenen Sporozoiten sichtbar, in der Mitte die Kammern. Zwischen den Schläuchen sind die Muskelfasern ganz atrophisch. Unten sind noch ziemlich intakte Muskelfasern und Bindegewebe sichtbar. Polychromes Methylenblau nach Unna, Obj. 3, Okul. IV.

Tafel II.

6) *Sarcocystis Blanchardi* Dofl. Junge Sporozoiten, bei welchen man die zentrale Zone sehr gut sehen kann. Das Chromatin ist ganz endständig.

7) Desgleichen. Entwickelte Formen. Neben ganz schlanken, stark gebogenen jungen Formen sind bedeutend dickere Gebilde zu sehen, in welchen das Chromatin zwar nahe dem Pole liegt, jedoch umfangreicher ist; die Konturen der zentralen Zone sind weniger deutlich. Ferner sind zwei dicke Sporozoiten sichtbar, in welchen das Chromatin den ganzen zentralen Teil des Sporozoiten einnimmt.

8) Desgleichen. Zwischen mehr oder weniger entwickelten Formen ist ein voluminöser Sporozoit sichtbar. Das Chromatin liegt zerstreut im zentralen Teile des Sporozoiten. Am oberen Ende ist das Centrosom deutlich sichtbar.

9) Desgleichen. In der Mitte liegen zwei eichelförmige, dicke Sporozoiten. Das Chromatin derselben liegt in beiden an der lateralen Wand des Sporozoiten, in zwei längliche Gebilde geteilt.

10) Desgleichen. In der Mitte ist ein voluminöser Sporozoit; am unteren Ende ist eine Spalte sichtbar als Vorstadium der Teilung.

11) Desgleichen. Die Teilung ist ganz zweifellos festzustellen. 6—11 Giemsa-Färbung; Deckglasdauerpräparate. $\frac{1}{12}$ hom. Immers. Okul. IV. Leitz Camera.

Nachdruck verboten.

Sur le trypanosan, trypanrot, trypanblau et parafochsin dans l'immunisation contre la rage¹⁾.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi**.

Les bons résultats que Ehrlich a obtenus par le trypanrot dans les souris infectées avec trypanosomes, m'ont poussé à essayer quelques-unes de ces substances trypanocides dans la rage²⁾.

J'ai infecté à ce propos des souris, rats et lapins (complexivement 29 animaux) hypodermiquement de virus fixe et puis, subitement après l'infection, après quelques heures ou quelques jours, je commençai le traitement en injectant deux fois par jour $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ —1 c. c., selon l'espèce de l'animal, des solutions aqueuses 1 % des sousdites substances.

Les expériences sont réunies dans le tableau suivant:

Dates	Animaux	Injections		Résultats
		Temps après l'infection	Quantités injectées	
Trypanrot.				
19 mai 1909	Souris	5 minutes	2½ c. c.	†
3 juin "	" 2	1 heure	1½ "	††
30 mai "	"	12 heures	2½ "	†
30 " "	"	24 "	2 "	†
30 " "	Rats 2	48 "	3 "	† ∞
30 " "	Rat	72 "	2 "	†
30 " "	Lapin	5 minutes	10 "	∞
8 juillet "	"	48 heures	10 "	†
Trypanosan.				
19 mai 1909	Souris	5 minutes	2½ c. c.	†
3 juin "	" 2	1 heure	1½ "	††
30 mai "	" 2	12 heures	2½ "	∞ ∞
30 " "	"	24 "	2 "	∞
30 " "	Rat	48 "	3 "	†
30 " "	"	72 "	2 "	†
30 " "	Lapin	5 minutes	10 "	∞
8 juillet "	"	48 heures	10 "	†

1) Avant d'essayer les quatre substances colorantes sousdites j'avais déjà essayé quelques autres substances et précisément les suivantes:

Huile jodat	Arsenit de potasse
Huile bromé	Arsenit de sodium
Huile phosphoré	Trypsin

J'expérimentai complexivement sur 50 animaux (lapins et rats). Aux animaux infectés de virus fixe, une partie par voie subdurale, une partie par voie souscutanée, on pratiquait 2 injections par jour pendant 6—7 jours, quelquefois avant, quelquefois après l'infection et parfois aussi avant que après.

Le résultat fut presque toujours négatif: Seulement 5 lapins, infectés par voie subdurale et traités avec huile bromé, huile phosphoré et arsenit de potasse se sauvèrent, mais je pense que ces cas positifs soient venus simplement par accident. L'huile bromé et l'huile phosphoré mêlées au vaccin, s'ils ne diminuent pas le pouvoir de celui-ci ils ne l'ont certainement augmenté chez les murides infectés de virus de rue par voie souscutanée.

2) A ce propos je remercie vivement le Prof. Ehrlich de m'avoir fait gracieusement envoyer ces quatre substances trypanocides.

Dates	Animaux	Injections		Résultats
		Temps après l'infection	Quantités injectées	
Trypanblau.				
19 mai 1909	Souris	5 minutes	2½, c. c.	†
Parafuchsin.				
19 mai 1909	Souris	5 minutes	2½, c. c.	†
30 " "	Lapin	5 "	10 "	∞
8 juillet "	"	48 heures	10 "	†
Trypanrot + tryparosan.				
8 juillet 1909	Rats 2	5 minutes	10 c. c.	∞ ∞
8 " "	Rat	12 heures	10 "	†
8 " "	"	24 "	10 "	†
12 juin "	Souris 2	96 "	2 "	††
11 " "	Lapins 2	48 "	15 "	†† ∞
8 juillet "	" 2	48 "	10 "	∞ ∞
21 août "	" 3	24 "	10 "	†† ∞
28 " "	" 5	5 minutes	15 "	†††††
Trypanrot + tryparosan + trypanblau.				
12 juin 1909	Souris 2	96 heures	1 c. c.	††
Trypanrot + trypanosan + sérum antirabique.				
12 juin 1909	Souris 2	96 heures	1 c. c.	††
11 " "	Lapin	48 "	10 "	†

Résultats. 1° Les souris traitées soit avec l'une, soit avec l'autre des quatre substances (2—2 $\frac{1}{2}$ c. c.) moururent tous soit si l'on commençait le traitement après 24—12 heures soit tout de suite après l'infection. Dans une seule expérience se sauvèrent les souris traitées avec tryparosan, 12—24 heures après l'infection.

2° Les rats traités avec du tryparosan (complexivement 2—3 c. c.), en commençant le traitement 2 ou 3 jours après l'infection, moururent tous ceux qui avaient été injectés avec du tryparosan et en survécurent 1 : 2 de ceux traités avec du trypanrot.

3° Les rats traités avec 10 c. c. d'un mélange à parties égales de trypanrot et tryparosan 1% ont survécu tous, si l'on commençait subitement après l'infection et, au contraire, moururent tous si l'on commençait le traitement après 12—24 heures.

4° Les lapins traités avec tryparosan, trypanrot, parafuchsin subitement après l'infection souscutanée de virus fixe ont survécu tous (3 : 3), tandis qu'il moururent tous si l'on commençait après 48 heures; traités avec un mélange à parties égales de trypanrot et tryparosan, moururent tous si le traitement fut commencé subitement après l'infection (5 : 5) et au contraire s'en sauvèrent 1 : 3 si le traitement fut commencé 24 heures après l'infection, et 3 : 4 si le traitement fut commencé 48 heures après.

5° Les sousesdites substances mêlées au sérum de cheval ne réussirent pas à augmenter la valeur à celui-là car les souris traitées avec le sousdit mélange 96 heures après l'infection hypodermique de virus fixe, moururent tous.

Conclusions. De ces peu expériences préliminaires, le trypanosan, trypanrot et parafuchsin soit séparées, soit mêlées n'auraient exercé aucune action immunisante sur les souris et sur les rats, infectés hypodermiquement de virus fixe 1—3 jours avant le traitement. Pour les lapins, au contraire, elles se sont montrées quelquefois efficaces. Nous verrons si des autres recherches confirmeront ou non ce fait important¹⁾.

Nachdruck verboten.

Comparaison entre le pouvoir lyssicide et immunisant du sérum antirabique de différents animaux et de différents instituts.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi.**

A. Sérum antirabique de différents animaux.

Préparation du sérum. Tous les animaux étaient immunisés avec mon vaccin (virus fixe 5% pheniqué à 1%) pendant 25—30 jours pratiquant deux injections par jour de 2½ c.c. chez les brébis, les chiens et les oies et de 5 à 10 c.c. chez les chevaux et les ânes.

Après 20—22 jours de la dernière injection on saignait l'animal et l'on préparait le sérum.

A. Pouvoir lyssicide chez les souris.

Les expériences instituées à ce propos sont réunies dans le tableau ci-dessous:

Dates	Animaux	Mélanges	Durée du contact	Résultat
11 décembre 1908	Souris 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞
	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 „	∞ ∞
	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 „	∞ ∞
3 mars 1909	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. + Virus fixe (1%) 2 c. c.	1 heure	∞ ∞
	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. + Virus fixe (1%) 3 c. c.	1 „	∞ ∞
	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. + Virus fixe (1%) 4 c. c.	1 „	† ∞
	„ 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. + Virus fixe (1%) 5 c. c.	1 „	† ∞
29 août 1909	„ 2	Sérum antir. de cheval II 0,5 + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞

1) Les sousdites substances trypanocides se sont montrées inactives contre plusieurs infections microbiques chez les souris (bac. du carbon, Streptococcus, Staphylococcus, Diplococcus etc.).

Dates	Animaux	Mélanges	Durée du contact	Résultat
29 août 1909	Souris 2	Sérum antir. de cheval II 0,1 + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	Sérum antir. de cheval II 0,05 + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 36 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 heures	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 36 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 "	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 36 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 "	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 16 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 "	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 16 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 "	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis (vacc. 16 jours) 0,1 c. c. + Virus fixe (1:500) 1 c. c.	24 "	∞
	" 1	Sérum antir. de brébis 1 c. c. + Virus fixe (1%) 2 c. c.	1 heure	†
	" 1	Sérum antir. de brébis 1 c. c. + Virus fixe (1%) 3 c. c.	1 "	†
	" 1	Sérum antir. de brébis 1 c. c. + Virus fixe (1%) 4 c. c.	1 "	†
	" 1	Sérum antir. de brébis 1 c. c. + Virus fixe (1%) 5 c. c.	1 "	†
	" 4	Sérum de chien 0,3 c. c. + V. f. (1%) 1 c. c.	24 heures	†† ∞ ∞
	" 2	" " " 0,5 " + " " " 1 "	24 "	∞ ∞
	" 2	" " " 0,1 " + " " " 1 "	24 "	† ∞
	" 2	" " " 0,05 " + " " " 1 "	24 "	† †
	" 2	" " " 0,5 " + " " " 1 "	24 "	∞ ∞
	" 2	" " " 0,1 " + " " " 1 "	24 "	∞ ∞
	" 2	" " " 0,05 " + " " " 1 "	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ †
	" 2	Sérum de chien (vacc. avec s. nerv. nor.) 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 1	Sérum d'oie 0,1 c. c. + V. fixe (1:500) 1 c. c.	24 heures	∞
	" 1	" " 0,2 " + " " (1:500) 1 "	24 "	∞

Conclusion. De ce tableau il résulte que tandis que le pouvoir lyssicide du sérum de cheval (contact 24 heures) fut supérieur à 1:50 celui de chien oscilla de 1:2 à 1:10, celui de mouton arriva à 1:2 et celui d'oie à 1:1 seulement.

B. Pouvoir immunisant chez les souris. Le pouvoir immunisant des différents sérums fut essayé toujours sur les souris 24—48—72—84 et 96 heures après l'infection subcutanée de virus fixe, en injectant respectivement $2\frac{1}{2}$ —2— $1\frac{1}{2}$ —1 et $\frac{1}{2}$ c. c. de sérum, en pratiquant deux injections par jour d' $\frac{1}{4}$ de c. c.

On expérimenta sur 156 souris.

Les expériences figurent dans le tableau suivant:

Dates	Animaux	Sérum			Résultat
		Origine	Quantité totale injectée	Temps après l'infection	
	Souris 2	Cheval	2 1/2 c. c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	48 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1/2 "	96 "	∞ †
10 juin 1909	" 2	"	1 1/2 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	96 "	† †
11 décembre 1908	" 2	"	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1/2 "	96 "	∞ †
25 janvier 1909	" 2	"	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1/2 "	96 "	∞ †
4 mars 1909	" 2	"	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	96 "	† †
20 juin 1908	" 2	"	2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	96 "	∞ ∞
8 juillet 1908	" 2	"	2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	96 "	∞ ∞
15 juillet 1908	" 4	"	3/4 "	96 "	∞ ∞ ∞ ∞
	Rat 1	"	6 c. c. (6 injections en 3 jours)	72 "	∞
	" 1	"	4 c. c. (4 injections en 4 jours)	84 "	∞
28 août 1909	Souris 2	Cheval II	2 1/2 c. c.	5 minutes	∞ ∞
	" 2	"	2 "	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1/2 "	96 "	∞ ∞
16 juillet 1908	Rats 5	âne	20 c. c. en 10 inject.	5 minutes (virus de rue)	∞ ∞ ∞ ∞ ∞
3 septembre 1909	Souris 4	"	5 " " 20 "	5 minutes (virus de rue)	∞ ∞ ∞ ∞
	" 5	"	2 1/2 " " 10 "	5 minutes	† † ∞ ∞ ∞
24 novembre 1909	" 2	"	2 1/2 c. c.	5 "	∞ ∞
	" 2	"	2 "	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	1 1/2 "	48 "	∞ ∞
17 avril 1908	" 2	brébis (durée de la vacc. 16 jours)	3 "	5 minutes	† ∞
	" 1	brébis (vaccinat. 16 jours)	2 1/2 "	24 heures	∞
	" 1	brébis (vaccinat. 16 jours)	2 "	48 "	†
17 avril 1908	" 2	brébis (vaccinat. 36 jours)	3 "	5 minutes	∞ ∞
	" 1	brébis (vaccinat. 36 jours)	2 1/2 "	24 heures	∞
	" 1	brébis (vaccinat. 36 jours)	2 "	48 "	†
16 août 1909	" 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	2 "	48 "	∞ ∞

Dates	Animaux	Sérum			Résultat
		Origine	Quantité totale injectée	Temps après l'infection	
16 août 1908	Souris 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	1 "	84 "	† †
	" 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	3/4 "	96 "	† †
	" 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	2 c. c.	48 heures	∞ ∞
10 septembre 1908	" 2	mouton (vaccinat. 25 jours)	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	mouton (vaccinat. 50 jours)	2 "	48 "	∞ ∞
	" 2	mouton (vaccinat. 50 jours)	1 1/2 "	72 "	∞ ∞
	" 2	mouton (vaccinat. 50 jours)	1 "	84 "	† †
10 janvier 1909	" 2	chien	3 "	5 minutes	† †
	" 2	"	2 1/2 "	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	2 "	48 "	∞ ∞
15 janvier 1909	" 2	"	3 "	5 minutes	∞ ∞
	" 2	"	2 1/2 "	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	2 "	48 "	† †
16 juin 1909	" 4	"	2 1/2 "	24 "	∞ ∞ ∞ ∞
11 mai 1908	" 1	oie	1 1/2 "	48 "	∞
	" 1	"	1 "	72 "	†
	" 1	"	1/2 "	84 "	†

Le petit tableau suivant résume les résultats obtenus :

Sérum de cheval	survecus	34 : 34 = 100 %
" d'âne	"	18 : 20 = 90 "
" de brébis	"	34 : 44 = 77 "
" de chien	"	12 : 16 = 75 "
" d'oie	"	1 : 3 = 33 "

De ce tableau on voit donc qu'en ordre d'activité, déduite seulement du nombre des animaux survecus, vient, avant tous, le sérum de cheval, puis celui de brébis, puis celui de chien et dernier celui d'oie.

Outre que de la simple percentuale des survecus on peut étudier le pouvoir immunisant du sérum antirabique des différents animaux en rapport au nombre d'heures de l'infection après lequel ces sérums ont été injectés, comme il résulte du tableau ci-dessous :

Injection du sérum après	Cheval	Ane	Brébis	Chien	Oie
5 minutes		81 %		50 %	
24 heures	100 %		75 %	87 "	
48 "	100 "	100 "	90 "	33 "	100 %
72 "	100 "		100 "	0 "	0 "
84 "	100 "		0 "	0 "	0 "
96 "	50 "		0 "	0 "	0 "(?)

Conclusions. De ce tableau il résulte : 1° Que même à l'égard du nombre d'heures selon le majeur pouvoir immunisant vient, avant

tous, le sérum de cheval, puis celui d'âne¹⁾, puis celui de brebis, puis celui de chien et dernièrement celui d'oie.

2° Que le sérum de cheval fut le seul actif même après 84—96 heures et après 96 heures il donna la moitié de sauvés de ceux donnés après 84—72—48 heures etc.

3° Que généralement après 24 heures de l'infection les sousdits sérums se montrèrent plus actifs non seulement s'ils étaient injectés après 48—72 heures, mais aussi s'ils étaient injectés subitement après l'infection.

4° Que le pouvoir immunisant du sérum de chien injecté 24 heures après l'infection fut bien plus actif que non injecté 48—72 heures après; on observa, au contraire, presque nul différence pour celui de brebis et autant moins pour celui de cheval.

Je crois inutile de répéter que ces conclusions relatives au pouvoir immunisant des différents sérums regardent seulement les murides²⁾.

1) Pouvoir immunisant de quelques-uns des organes d'âne immunisé. Après avoir essayé le pouvoir immunisant du sérum de cet animal immunisé j'ai voulu aussi expérimenter le pouvoir immunisant de l'émulsion de quelques-uns de ses organes. Omettant, pour brèveté, les tableaux regardants les expériences institués sur 25 rats je rapporterai ici seulement les résultats. 1° Tandis que le sérum d'âne dans la dose maxime de 2 1/2 c. c. (injecté en 5 jours) sauva le 90 % des souris infectées de virus fixe par voie souscutanée 5 minutes et 48 heures avant, l'émulsion à 5 % de foie et de rein ne sauva aucun des rats infectés de virus de rue seulement 5 minutes avant, même arrivant à injecter 30 c. c. d'émulsion en 15 jours. 2° L'émulsion de rate, au contraire, injectée dans les mêmes doses et conditions sauva le 40 % des animaux et la moelle des os le 33 %. Mais enfin, le pouvoir immunisant de la rate et de la moelle des os d'âne immunisé, outre d'être énormément inférieur (calculant la quantité injectée du virus infectant) au sérum, fut aussi presque de la moitié et même de deux tiers inférieur au pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale.

2) Action du sérum antirabique sur les lapins et les chiens injectés par différentes voies. Le sérum antirabique essayé fut celui d'âne et de cheval, capables, comme nous avons vu, de sauver les souris même 84 heures après l'infection souscutanée de virus fixe. Aux lapins on en injectait 1 c. c. par voie subdurale et 10 c. c. par voie souscutanée; aux chiens 2 c. c. par voie subdurale et de 20 à 30 c. c. par voie souscutanée ou dans le péritoine. Les injections on les faisait 1—24—48 heures après l'infection. On expérimenta sur 27 animaux: 14 lapins et 13 chiens.

Résultats. 1° D'accord à ce que j'avais démontré dans mon précédent travail*) le sérum antirabique est capable de sauver les souris même après 84 et 96 heures, c'est-à-dire 4 jours de l'infection dans la proportion de 2 1/2 à 1/2 c. c.; il est au contraire parfaitement inactif chez les lapins infectés soit par voie subdurale, soit par voie souscutanée en l'injectant dans la proportion de 20 c. c. non seulement après 24 heures mais aussi après 5 heures ou 30 minutes ou tout de suite après l'infection.

En effet non seulement les 4 lapins infectés par voie subdurale, mais aussi tous les autres 10 infectés par voie souscutanée moururent de rage sans aucun retard de la période d'incubation.

2° Quelque résultat positif on obtint, au contraire, chez les chiens. En effet des 10 chiens s'en sauvèrent 4; 2:4 de ceux infectés par voie souscutanée et 3:8 de ceux infectés par voie subdurale; ceux infectés par voie souscutanée reçurent une injection de 20 c. c. de sérum dans le péritoine, ceux infectés par voie subdurale reçurent 2 c. c. de sérum par voie subdurale après 1—5—10 heures de l'infection.

Concluant, donc, il semble que les chiens soient plus faciles à sauver avec le sérum que les lapins.

Au même résultat négatif à l'égard des lapins vint aussi Marie en expérimentant avec le sérum antirabique de l'Institut Pasteur de Paris.

*) Fermi, C., Sur le différent pouvoir immunisant des vaccins et sérums antirabiques selon l'espèce de l'animal sur lequel on les essaye. (Studi Sassaressi. An. VI. Sez. II. fasc. III).

B. Sérum antirabique de différents instituts.

Pour comparer le pouvoir de mon vaccin antirabique de cheval et celui d'autres instituts sur les murides, j'ai prié Kraus, de l'Institut sérothérapeutique de Vienne, et Remlinger, de l'Institut Impérial de bactériologie de Constantinople, de m'envoyer un échantillon de leurs sérums et de l'essayer eux-mêmes sur les murides ensemble à mon vaccin que j'eus soin de leur envoyer.

Cette comparaison faite par chacun de nous sur la place était indispensable, car on sait (Marie, Remlinger) que le sérum antirabique peut perdre soudainement le plus grand part de son pouvoir. Or quand il s'agit d'un voyage de plusieurs jours un tel changement n'est pas impossible.

Les expériences que j'ai instituées figurent dans les tableaux suivants

A. Pouvoir lyssicide.

Dates	Animaux	Mélanges	Durée du contact	Résultat
Sérum de cheval-Sassari.				
11 décembre 1908	Souris 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,5 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
24 juillet 1909	" 2	Sérum antir. de cheval (1%) 1 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,5 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum antir. de cheval (1%) 0,1 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ †
3 mars 1909	" 2	Sérum de cheval (1%) 1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 2 c. c.	1 heure	∞ ∞
	" 2	Sérum de cheval (1%) 1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 3 c. c.	1 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de cheval (1%) 1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 4 c. c.	1 "	† ∞
	" 2	Sérum de cheval (1%) 1 c. c. ¹⁾ + Virus fixe (1%) 5 c. c.	1 "	† ∞
Sérum de cheval-Vienne.				
24 juillet 1909	Souris 2	Sérum de cheval (1%) 1 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	Sérum de cheval (1%) 0,5 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† ∞
	" 2	Sérum de cheval (1%) 0,1 c. c. ²⁾ + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	Témoin			†
4 mars 1909	Souris 1	Sérum de cheval 1 c. c. + V. f. (1%) 2 c. c.	1 heure	†
	" 1	" " " 1 " + " " " 4 "	1 "	†
	" 1	" " " 1 " + " " " 6 "	1 "	†
	" 1	" " " 1 " + " " " 8 "	1 "	†
24 juillet 1909	" 2	" " " 1 " + " " " 2 "	24 heures	† ∞
	" 2	" " " 1 " + " " " 4 "	24 "	† †
	" 2	" " " 1 " + " " " 6 "	24 "	† †
	" 2	" " " 1 " + " " " 8 "	24 "	† †

1) dilué avec phénol à 1%.

2) dilué avec eau physiologique.

Dates	Animaux	Mélanges	Durée du contact	Résultat
Sérum de mouton-Constantinople.				
24 juillet 1909	Souris 2	Sérum de mouton (1%) ² 1 c.c. + Virus fixe (1%) 1 c.c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	Sérum de mouton (1%) ² 0,5 c.c. + Virus fixe (1%) 1 c.c.	24 "	† ∞
	" 2	Sérum de mouton (1%) ² 0,1 c.c. + Virus fixe (1%) 1 c.c.	24 "	† †
	Témoin			†
5 mai 1909	Souris 2	Sérum du mouton 1 c.c. + V. f. (1%) 2 c.c.	24 "	∞ ∞
	" 2	" " " 2 " " " " 4 "	24 "	† ∞
	" 2	" " " 1 " " " " 6 "	24 "	∞ ∞
	" 2	" " " 1 " " " " 8 "	24 "	∞ ∞
24 juillet 1909	" 2	" " " 1 " " " " 2 "	24 "	† ∞
	" 2	" " " 1 " " " " 4 "	24 "	† †
	" 2	" " " 1 " " " " 6 "	24 "	† †
	" 2	" " " 1 " " " " 8 "	24 "	† †

B. Pouvoir immunisant.

Dates	Animaux	Sérum			Résultat
		Origine	Quantité totale injectée	Temps après l'infection	
Sérum de cheval-Sassari.					
10 juin 1909	Souris 2	cheval	2 $\frac{1}{2}$ c.c	24 heures	∞ ∞
	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	48 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	$\frac{1}{2}$ "	96 "	∞ †
	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 "	96 "	† †
11 décembre 1908	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	∞ ∞
	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	84 "	∞ ∞
	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	96 "	∞ †
25 janvier 1909	" 4	"	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	∞ ∞ ∞ ∞
	" 4	"	1 "	84 "	∞ ∞ ∞ ∞
	" 4	"	$\frac{1}{2}$ "	96 "	∞ † † †
20 juin 1908	" 4	"	2 "	72 "	∞ ∞ ∞ ∞
	" 4	"	1 $\frac{1}{2}$ "	84 "	∞ ∞ ∞ ∞
	" 4	"	1 "	96 "	∞ ∞ ∞ ∞
15 juillet 1908	" 4	"	$\frac{3}{4}$ "	96 "	∞ ∞ ∞ ∞
Sérum de cheval-Vienne.					
22 juillet 1909	Souris 2	cheval	2 c.c	48 heures	† †
	" 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	† †
	" 2	"	1 "	84 "	† †
	" 2	"	$\frac{1}{2}$ "	96 "	† †
	Témoin				†
4 mars 1909	Souris 2	"	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	† †
	" 2	"	1 "	84 "	† †
	" 2	"	$\frac{1}{2}$ "	96 "	† †

Dates	Animaux	Sérum			Résultat	
		Origine	Quantité totale injectée	Temps après l'infection		
Sérum de mouton-Constantinople						
22 juillet 1909	Souris 2	mouton	2 c.c	28 heures	+	+
	" 2	"	1½ "	72 "	+	+
	" 2	"	1 "	84 "	+	+
	" 2	"	½ "	96 "	+	+
	Témoin					+
4 mai 1909	Souris 2	"	2½ "	5 minutes	+	+
	" 2	"	2 "	24 heures	+	+
	" 2	"	1½ "	72 "	+	+
	" 2	"	1 "	84 "	+	+

Conclusions. A. Pouvoir lyssicide. Tandis qu'avec un contact de 24 heures du sérum et vaccin, la valeur de mon sérum de cheval fut supérieur à 1:50 et celui de mouton et de chien à 1:5—1:10, celui de mouton à Constantinople arriva seulement à 1:18 le 5 de mai, pour se réduire à 1:2 le 24 juillet; et celui de Vienne à 1:2, essayé une seconde fois 5 mois après son arrivée à Sassari; puis tandis qu'avec un contact d'une heure seulement le même sérum de cheval de Sassari fut actif à 1:5, celui de Vienne fut complètement inactif.

Ainsi, pour conclure, mon sérum, spécialement de cheval, serait, à Sassari, bien plus actif de celui de Vienne et de Constantinople.

B. Pouvoir immunisant. A l'égard du pouvoir immunisant, tandis que mon sérum antirabique de cheval fut capable de sauver le 100% de souris (12:12) 84 heures après l'infection souscutanée de virus fixe et le 62% (11:18) après 96 heures, celui de Vienne fut inactif après 48 heures de l'infection, expérimentant sur 14 souris, et celui de Constantinople même après 24 heures seulement, expérimentant sur 16 souris.

Nachdruck verboten.

Comparaison entre le pouvoir immunisant et lyssicide du sérum antirabique des chiens traités avec mon vaccin, avec le vaccin Pasteur, avec le virus de rue et avec la substance nerveuse normale.

[Institut Antirabique annexé à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par le Prof. Claudio Fermi.

A. Pouvoir immunisant.

Les expériences instituées à ce propos figurent dans le tableau suivant:

Dates	Animaux	Sérum			Résultat
		de chien immunisé avec:	Quantité injectée	Temps après l'injection	
10 juin 1909	Souris 4	Vaccin Fermi	2 $\frac{1}{2}$ c. c.	24 heures	∞ ∞ ∞ ∞
10 janvier 1909	" 2	" "	3 "	5 minutes	† †
	" 2	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	24 heures	∞ ∞
	" 2	" "	2 "	48 "	∞ ∞
15 janvier 1909	" 2	" "	3 "	5 minutes	∞ ∞
	" 2	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	24 heures	∞ ∞
	" 2	" "	2 "	48 "	† †
25 juillet 1908	" 2	" Pasteur	2 "	48 "	† †
	" 2	" "	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	† †
	" 2	" "	1 "	84 "	† †
10 septembre 1909	" 2	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	5 minutes	∞ ∞
	" 2	" "	2 "	24 heures	∞ ∞
	" 2	" "	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	∞ †
	" 2	" "	1 "	84 "	† †
10 juin 1909	" 2	Virus de rue	2 $\frac{1}{2}$ "	24 "	† † ∞ ∞
10 juin 1909	" 2	S. nerveuse normale (agneau)	2 $\frac{1}{2}$ "	24 "	† † † ∞
10 janvier 1909	" 2	S. nerveuse normale	3 "	5 minutes	∞ ∞
	" 2	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	24 heures	† †
	" 2	" "	2 "	48 "	† †
15 janvier 1909	" 2	" "	3 "	5 minutes	† ∞
	" 1	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	24 heures	†
	" 2	" "	2 "	48 "	† ∞
17 septembre 1909	" 2	" "	2 $\frac{1}{2}$ "	5 minutes	∞ ∞
	" 2	" "	2 "	24 heures	† †
	" 2	" "	1 $\frac{1}{2}$ "	72 "	† †
	" 2	" "	1 "	84 "	† †
	" 2	" "	$\frac{1}{2}$ "	96 "	† †

Pour commodité du lecteur je résumerai les résultats dans le tableau suivant:

Sérum obtenu avec le vaccin Fermi (virus fixe 5 %)	Survécus	Centennale
" " " " " Pasteur	12 : 16	75 %
" " virus de rue (5 %)	5 : 14	35 "
" " substance nerveuse normale (cerveau d'agneau 5 %)	2 : 4	50 "
	7 : 25	28 "

De ce tableau on peut relever que mon vaccin a produit le sérum antirabique plus actif ayant sauvé le 75 % des animaux, et précisément deux fois plus actif que le sérum produit par le vaccin Pasteur (35 %), trois fois (28 %) plus actif que le sérum produit par la substance nerveuse normale et un peu ($\frac{2}{3}$) plus actif que le sérum produit par le virus de rue (50 %).

Dans mon travail déjà cité j'avais aussi démontré que le sérum d'animaux (lapins) traité avec substance nerveuse séchée (rabique ou normale qu'elle soit) est d'une valeur bien plus inférieure à celui obtenu en traitant les animaux avec substance nerveuse fraîche. Voici la conclusion:

„Le sérum de lapins immunisés avec substance nerveuse normale séchée ne sauva aucun des souris infectées par voie sous-cutanée de

virus fixe, et le sérum de lapins traités avec substance nerveuse rabique, aussi séchée, c'est à dire avec le plus actif vaccin Pasteur, sauva seulement le 33 % de ces animaux, tandis que le sérum de lapins traités avec les deux substances fraîches donna le 100 % de survecus."

B. Pouvoir lyssicide.

Les résultats obtenus de ces expériences figurent dans le tableau suivant:

Dates	Animaux	Mélanges	Durée du contact	Résultat
7 août 1909	Souris 2	Sérum de chien vacciné avec mon vaccin, 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 heures	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec mon vaccin, 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec mon vaccin, 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
10 septembre 1909	" 2	Sérum de chien vacciné avec vaccin Past., 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec vaccin Past., 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec vaccin Past., 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ †
7 août 1909	" 2	Sérum de chien vacciné avec virus de rue de chien, 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec virus de rue de chien, 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien vacciné avec virus de rue de chien, 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
7 août 1909	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	∞ ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† ∞
	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,05 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
17 septembre 1909	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,5 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †
	" 2	Sérum de chien vacciné avec s. nerveuse normale, 0,1 c. c. + Virus fixe (1%) 1 c. c.	24 "	† †

Conclusion. De ce tableau il résulte que tandis que le pouvoir lyssicide du sérum de chien vacciné avec mon vaccin et avec vaccin Pasteur fut d'1:10, celui du sérum de chien traité avec substance nerveuse normale et avec virus de rue fut d'1:2.

Conclusion finale. 1° Expérimentant sur les murides le pouvoir immunisant du sérum des chiens traités avec mon vaccin (virus fixe à 5%) fut supérieur de $\frac{2}{3}$ au sérum des chiens vaccinés avec virus de rue, de trois fois au sérum des chiens vaccinés avec substance nerveuse normale fraîche et de deux fois, comme j'ai déjà démontré dans des autres travaux, au sérum des chiens traités avec le virus Pasteur.

2° Le sérum des chiens traités avec substance nerveuse normale fut deux fois moins efficace de celui des chiens traités avec le

virus de rue, et de $\frac{1}{5}$ inférieur au sérum obtenu avec le vaccin Pasteur.

3° Le pouvoir lyssicide du sérum des chiens traités avec mon vaccin et avec vaccin Pasteur fut 3—5 fois supérieur au pouvoir lyssicide du sérum des chiens traités avec substance nerveuse normale et avec virus de rue.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuer Typhusnährböden.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle.
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Fränkel.]

Von Dr. Kathe und Dr. Blasius, Assistenten des Institutes.

Bei dem so überaus wechselnden Krankheitsbilde des Typhus abdominalis ergibt sich die unabweisliche Forderung, in allen auch nur irgendwie verdächtigen Fällen die klinische Diagnose durch bakteriologische Untersuchungsmethoden zu stützen bzw. sicherzustellen.

Dieser spezifische Nachweis für diagnostische Zwecke beschränkt sich immer mehr auf die Prüfung des Agglutinationstiters des Krankenserums und, wenn auch in geringerem Umfange, auf die Züchtung der Typhusbacillen aus dem Blute der Patienten.

An der außerordentlichen Leistungsfähigkeit dieser beiden Methoden, die sich einander ergänzen, kann auch nicht der geringste Zweifel mehr bestehen, trotz des absprechenden Urteils, das hin und wieder immer noch von klinischer Seite laut wird, trotz äußerst seltener Typhusbacillenfunde im Blute von Personen, die nachweislich nicht an Typhus leiden bzw. gelitten haben.

Der Nachweis der Typhusbacillen in den Ausscheidungen dagegen hat in diagnostischer Hinsicht ganz erheblich an Bedeutung eingebüßt. Um so höher müssen wir ihn aber dafür in sanitätspolizeilicher Hinsicht bewerten. Gerade die Erfahrungen der letzten Jahre, die wir vor allem den Typhusuntersuchungsstationen verdanken, haben gezeigt, daß in dieser Richtung die Lösung des Problems einer erfolgreichen Typhusbekämpfung erstrebt werden muß.

Die Lösung des Problems beruht aber zum großen Teil in der Vervollkommnung der Methodik. Der diagnostische Nachweis des Typhus, serologisch und durch Blutkultur, dürfte einer wesentlichen Verbesserung kaum mehr fähig sein; die Züchtung der Erreger aus Stuhl und Urin stößt dagegen noch immer auf mehr oder weniger große Schwierigkeiten.

Der beste Beweis für diese Unzulänglichkeit ist ja eben die Tatsache, daß wir fast jedes Jahr mit mehreren neuen Verfahren beschenkt werden, die berufen erscheinen, die Lücke auszufüllen.

Die Schwierigkeiten sind in der Natur der Sache begründet: oft nur in relativ geringer Zahl in den Ausscheidungen vorhandene Typhusbacillen sollen in einer doch recht geringen Menge des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden, das meist andere mit größerer Wachstumstendenz ausgestattete „Konkurrenzbakterien“ in weit überlegener Zahl enthält.

Verschiedene Wege erschienen, wie bekannt, aussichtsreich und sind auch eingeschlagen worden, um diese Schwierigkeiten zu überwinden.

Einmal wurde das differente Verhalten des Typhusbacillus und seines Hauptkonkurrenten, des *Bac. coli*, Kohlehydraten gegenüber benutzt. Die einzelnen Kolonien werden durch die Farbenreaktion unterschieden, welche der dem Nährboden zugesetzte Indikator unter der Einwirkung der aus dem Zucker sich abspaltenden Säure gibt.

Weiterhin versuchte man durch den Zusatz chemisch differenter Stoffe zum Nährsubstrat die Konkurrenz Bakterien in elektiver Weise zu schädigen, in der Entwicklung zu hemmen und dadurch gleichzeitig eine relative Anreicherung der Typhusbacillen zu erzielen.

In Anlehnung an Kochs Methode der Züchtung von Cholera-vibrionen mit Hilfe des Peptonwassers ging das Bemühen weiter dahin, ein Nährmedium herzustellen, das nicht nur die Begleitbakterien schädigt, sondern auch auf die Typhusbacillen elektiv wachstumsbegünstigend einwirkt. Als Idealnährboden endlich wurde eine Kombination dieser drei Faktoren erstrebt.

Alle diese Bestrebungen, den Typhusbacillennachweis in den Ausscheidungen des Kranken zu erleichtern, haben uns ein ganzes Stück vorwärts gebracht, aber das Ziel, ein elektiver Nährboden, ähnlich der Peptonkultur, ist noch nicht erreicht, das dürfen wir wohl schon voregreifend sagen. Aber gerade deswegen erscheint es wünschenswert, die neuen Typhusnährböden in ihrer Leistungsfähigkeit gegenüber den älteren Methoden in vergleichenden, möglichst den natürlichen Verhältnissen der bakteriologischen Praxis angepaßten Versuchsreihen zu prüfen, um auf Grund der gewonnenen Resultate unter Berücksichtigung aller in Betracht kommenden Momente ihren Wert abzuschätzen.

Von diesem Gedanken ausgehend, haben wir drei ältere Nährböden, den Drigalski-Conradi- und den Endoagar, sowie das kombinierte Lentz-Tietzsche Verfahren, ferner drei neue Methoden, den Kindborgschen Säurefuchsin-Malachitgrünagar, den Brillantgrün-Pikrinsäureagar Conrads und den Malachitgrün-Galle-Agar Padlewskis, gleichzeitig gebraucht, einmal, um festzustellen, welcher Nährboden absolut die günstigsten Resultate ergibt, d. h. prozentualiter am häufigsten den Nachweis von Typhusbacillenkolonien gestattet; weiterhin suchten wir auch die Leistungsfähigkeit nach der Richtung zu erproben, auf welchem Nährboden die Typhuskolonien am frühesten nachzuweisen sind, und endlich bemühten wir uns, darüber ins klare zu kommen, welcher Nährboden bereits in ihrer Lebensfähigkeit geschädigten Typhusbacillen noch am ehesten das Wachstum gestattet¹⁾.

Mit einigen Worten sei der Entwicklungsgang der Methodik des kulturellen Typhusbacillennachweises in seinen wesentlichsten Phasen skizziert, um dabei gleichzeitig die Prinzipien zu besprechen, welche der Herstellung der von uns verwendeten 6 Nährmedien zugrunde liegen.

Der erste Versuch der kulturellen Unterscheidung von Typhusbacillen und den Bakterien der Coli-Gruppe, und zwar mit Hilfe der

1) Die Untersuchungen wurden bereits vor längerer Zeit abgeschlossen. Außere Umstände waren die Veranlassung, daß wir sie erst jetzt mitteilen.

Farbenreaktion, stammt von Wurtz¹⁾ (1892), der die bereits früher festgestellte Tatsache, daß Coli-Bacillen den Milchzucker unter Abspaltung von Säure vergären, diesem Zwecke nutzbar machte, indem er einem schwach alkalischen Agar als Indikator außer Milchzucker Lackmuspulver zusetzte. Alle Bakterien mit der Fähigkeit der Laktosevergärung wuchsen auf diesem Medium in Form roter Kolonien, die Typhusbacillen dagegen farblos.

Während Wurtz auf diese Weise nur Reinkulturen zu identifizieren versuchte, benutzte Mathews²⁾ die Methode bereits zum Nachweise von Typhusbacillen in Wasser, indem er je 1 ccm desselben mit dem entsprechenden Quantum Nährmedium zu Platten ausgoß. Doch bewährte sich dies Verfahren schon aus dem Grunde nicht, weil das Zuckerspaltungsvermögen der Coli-Bacillen nur bei ungehindertem Luftzutritt, d. h. also bei Oberflächenausstrichen, konstant ist.

Drigalski und Conradi³⁾, die die prinzipielle Bedeutung dieser Maßnahme erkannten, gingen nun einen Schritt weiter, indem sie den Nährboden insofern modifizierten, als sie einmal Nutrose zusetzten, die den Typhusbacillen günstigere Entwicklungsbedingungen bietet und unter ihrer Einwirkung Produkte von alkalischer Reaktion entstehen läßt, welche die Blaufärbung des Nährbodens unter der Kolonie nur noch verstärken. Neben dieser Wachstumsbegünstigung suchten sie dann noch eine relative Anreicherung der Typhuskolonien durch Zusatz eines, eine elektive Bakterizidie auf Kokkenarten ausübenden Anilinfarbstoffes, des Kristallviolett, zu erreichen. Irgendeine wahrnehmbare Schädigung der Typhusbacillen sollte nicht eintreten; allerdings erfuhren auch die meisten anderen Bakterienarten keine Hemmung, vor allem die in fötiden Stühlen häufig auftretenden *Proteus*-Arten nicht.

Auf nahezu den gleichen Prinzipien, wie sie für die Herstellung des Drigalski-Conradi'schen Agars maßgebend waren, beruht die Zusammensetzung des von Endo⁴⁾ angegebenen Nährbodens. Allerdings verzichtet er auf den Zusatz bakterizider bzw. die Entwicklung von Typhusbacillen elektiv begünstigender Agentien.

Das Wesentliche stellt wieder der Milchzucker dar resp. die aus ihm unter der Einwirkung der Bakterien der Coli-Gruppe abgespaltene Säure. Doch ist der Indikator, wie man wohl zugeben muß, glücklich gewählt, die Farbendifferenz ist recht prägnant. Während die Typhuskolonien auf ungefärbtem Grunde farblos bleiben, erscheinen die der Coli-Bacillen leuchtend bis tief rot mit grünlichem metallischen Glanz. Der chemische Vorgang bei der Farbreaktion ist hier komplizierter; das dem Agar zugesetzte Fuchsin wird durch gleichzeitig in Lösung befindliches Natriumsulfit reduziert, in die Leukobase verwandelt, also farblos. Der Agar ist an und für sich alkalisch; die aus dem Milchzucker abgespaltene Säure verbindet sich mit der Leukobase und bildet mit ihr den intensiv roten Farbstoff.

Bereits Drigalski und Conradi hatten gelegentlich ihrer Studien über die elektive Bakterizidie verschiedener Anilinfarbstoffe gegenüber Typhusbacillen das Malachitgrün geprüft, hatten sich jedoch schließlich für die Verwendung des Kristallviolett entschieden.

1) Wurtz, R., Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1892. T. IV. p. 85, 383.

2) Mathews, A. P., ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1898. p. 214.

3) Drigalski u. Conradi, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. p. 883.

4) Endo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. p. 109.

Löffler¹⁾ nahm diese Versuche wieder auf unter besonderer Berücksichtigung des Malachitgrüns, und es gelang ihm mit seiner Hilfe einen Nährboden herzustellen, der vor allem der einen Forderung entsprach, stark entwicklungshemmend auf die Konkurrenz Bakterien, speziell das *Bac. coli*, einzuwirken, und dadurch indirekt zu einer relativen Anreicherung der Typhusbacillen zu führen. Auch die andere Bedingung, die Kolonien durch eine Farbenreaktion kenntlich zu machen, wurde wenigstens bis zu einem gewissen Grade erfüllt. Die Typhuskolonien, die ein eigentümlich krustiges Aussehen aufweisen, verwandeln in ihrer Umgebung das Grün des Nährbodens in ein Gelbgrün bzw. ausgesprochenes Gelb.

Mancherlei Nachteile dieses Malachitgrünnährbodens, die von Löffler selbst erkannt wurden — z. B. daß verschiedene Alkalibildner genau die gleichen Wachstumserscheinungen zeigen — veranlaßten Lentz und Tietz²⁾ zu einer Modifikation der Methode, welche dem Malachitgrünagar lediglich die Rolle eines Anreicherungsverfahrens in dem vorhin kurz skizzierten Sinne zuweist, während ergänzend die Drigalski-Conradi-Platte dazutritt, auf der die vom Malachitgrünagar hauptsächlich abgeschwemmten Typhusbacillen zur Entwicklung gelangen und sich als solche nunmehr durch die Farbenreaktion ihrer Kolonien zu erkennen geben.

Ein ähnliches Prinzip des getrennten Anreicherungs- und Kulturverfahrens befolgten auch Hoffmann und Ficker³⁾.

Nachdem bereits Roth⁴⁾ die für *Coli*-Bacillen stark entwicklungshemmende Wirkung eines Koffeinzusatzes zum Nährmedium festgestellt hatte, und zwar in Dosen, die eine Entwicklung der Typhusbacillen noch gestatten, arbeiteten Hoffmann und Ficker die Methode weiter aus, indem sie eine Koffeinbouillon nach Zusatz von Kristallviolett, um auch die übrigen Konkurrenz Bakterien in der Entwicklung zu hemmen, als Vorkultur benutzten. Nach 13-stündiger Anreicherung bei 37° wurden mit der Bouillon Lackmus-Milchzuckeragarplatten bestrichen, die nun ihrerseits die Kolonien der Typhusbacillen an der Farbenreaktion erkennen ließen.

Das Verfahren, das von Lubenau⁵⁾ noch verbessert wurde, gibt wohl sehr gute Resultate, ist aber so kompliziert, daß es bisher keine praktische Verwendung gefunden hat.

Eine leichtere Handhabung soll die von Reischauer⁶⁾ angegebene Modifikation gewährleisten, die dem Lentz-Tietzschen Verfahren entspricht und von dem Hoffmann-Fickerschen im wesentlichen nur dadurch abweicht, daß an Stelle des flüssigen Nährmediums der Vorkultur Agar tritt.

Die Methodik des Typhusbacillennachweises ist dann in den letzten Jahren durch mehrere neue Verfahren bereichert worden. Sie legen in der Mehrzahl starkes Gewicht darauf, die Typhusbacillen elektiv in ihrer Entwicklung zu begünstigen und dabei die Konkurrenz Bakterien soweit als irgend zulässig zu schädigen, mit anderen Worten, die Bedingungen

1) Löffler, Deutsche med. Wochenschr., Vereinsbeilage 1903. No. 36.

2) Lentz u. Tietz, Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 2139.

3) Hoffmann u. Ficker, Arch. f. Hygiene. Bd. 49. 1904.

4) Roth, Hygien. Rundschau. Bd. 13. 1903. p. 489.

5) Lubenau, Arch. f. Hygiene. Bd. 61. 1907. p. 232.

6) Reischauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 106.

für eine ausgesprochene relative Anreicherung zu schaffen. Eine Differenzierung durch Farbenreaktion wird nur bei einigen angestrebt.

Um die bereits erwähnten Mängel seines ursprünglichen Malachitgrünverfahrens zu beheben und die Verzögerung der Diagnosestellung um mindestens einen Tag, wie sie die Lentz-Tietzsche Modifikation notwendigerweise zur Folge hat, zu vermeiden, fügte Löffler¹⁾ dem Malachitgrünagar als elektive Nährpräparate anstatt des Peptons Nutrose und weiterhin noch Galle hinzu. Die Coli-Kolonieen, falls sie überhaupt auftreten, unterscheiden sich von denen der Typhusbacillen nicht durch Farbendifferenz, die ja auf dem ursprünglichen Nährboden bis zu einem gewissen Grade vorhanden war, sondern vor allem morphologisch.

Die Typhuskolonieen sind zart und durchscheinend, bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung grau oder farblos, gekörnt, außerdem lassen sie Furchen und einen gekerbten Rand erkennen. Die Coli-Kolonieen hingegen imponieren bei Betrachtung mit bloßem Auge als dickere Häufchen von trüber, weißlicher Beschaffenheit; mikroskopisch sind sie mehr gelblich bis bräunlich, meist ohne Furchenbildung.

Die für Typhusbacillen relativ geringe, für die meisten anderen Darmbakterien dagegen teilweise recht erheblich bakterizide Wirkung des Malachitgrüns ist in der Folge noch für zwei elektive Nährböden zur Verwendung gelangt, von denen der Kindborgsche schon insofern eine Sonderstellung einnimmt, als er auf jeden spezifisch entwicklungsbefördernden Zusatz verzichtet und im Grunde eine Modifikation des alten Löffler-Nährbodens mit allerdings sehr prägnanter Farbendifferenzierung darstellt. Zur Ermöglichung der letzteren gingen E. und A. Kindborg²⁾ von der zutreffenden Voraussetzung aus, daß es ganz im Gegensatz zu den bisher üblichen Verfahren viel wichtiger sei, die zu diagnostizierenden Kolonieen, also nicht die der Coli-Bakterien, sondern die der Typhusbacillen, eine mit dem Grundton des Nährsubstrates kontrastierende Farbe annehmen zu lassen.

Der schwach alkalische Fleischwasseragar enthält Milchzucker, Säurefuchsin und Malachitgrün. Eine Reihe von Bakterien, zu denen auch die Typhus-Coli-Gruppe gehört, entfärben das Säurefuchsin, und zwar auf Grund ihrer biologischen Eigenschaft, Nitrate, die von vornherein im Nährboden vorhanden sind, in Nitrite zu verwandeln. Andererseits tritt eine intensiv rote Farbe wieder auf, wenn gleichzeitig Milchzucker vorhanden ist und aus ihm Säure abgespalten wird. Und zwar handelt es sich dabei nach Ansicht der Autoren nicht um das Wiederauftreten des ursprünglichen Farbstoffes, sondern um eine neue chemische Verbindung. Bakterienarten, die Milchzucker angreifen, werden also, falls der Malachitgrünzusatz überhaupt eine Entwicklung zuläßt, den Nährboden entfärben, während die Säurebildner mit dem Tone des Nährbodens nicht kontrastierende Kolonieen bilden; Typhusbacillenkolonieen erscheinen demnach nach 12–24-stündigem Wachstum als helle Punkte auf purpurnem Grunde, und im Verlauf von weiteren 24 Stunden schreitet die Entfärbungsreaktion noch fort.

Der Coli-Bacillus braucht durch die verwandte Konzentration des Malachitgrüns (1:3000) keineswegs im Wachstum unterdrückt zu werden; seine Kolonieen sind aber mit denen des Typhus nicht zu verwechseln.

1) Löffler, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.

2) Kindborg, E. u. A., Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 534.

Bezweckt wird lediglich, die *Proteus*-Arten und einzelne Saprophyten mit Entfärbungsvermögen zurückzuhalten, um so die Zahl der differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Kolonien auf das äußerste einzuschränken.

Der zweite neuere Malachitgrünnährboden, der von Padlewski¹⁾ angegeben ist, stellt gewissermaßen eine Kombination des verbesserten Löffler-Agars und der Prinzipien dar, denen der Endo-Nährboden seine Entstehung verdankt. Agentien, die entwicklungsbegünstigend auf die Typhusbacillen einwirken, andere, die die Konkurrenzbakterien mehr weniger schädigen, jene aber verhältnismäßig geringgradig beeinflussen, wirken im Sinne einer relativen Anreicherung zusammen und werden in zweckmäßiger Weise durch eine Farbreaktion ergänzt.

Die Grundlage des Nährbodens bildet der Löffler-Galleagar, dessen Nutrose jedoch durch 2 Proz. Pepton ersetzt ist. Außerdem enthält er Milchzucker und als „Reagens“ durch Natriumsulfit reduziertes Malachitgrün. Die Säurebildner, die Milchzucker zerlegen, oxydieren die Leukobase des Malachitgrüns; außerdem müssen auch noch andere, nicht näher zu definierende Prozesse in dem gleichen Sinne wirken, denn die Grünfärbung der betreffenden Kolonien tritt auch, allerdings nur schwach angedeutet und sehr langsam, ohne Milchzuckerzusatz auf. Nach 24-stündiger Brutdauer erscheinen auf dem farblosen Nährboden helle oder leicht getrübte, relativ recht große Typhuskolonien, die bei schwacher Vergrößerung feine Furchenbildung und gekerbte Ränder aufweisen, leicht goldgelblich gefärbt und feinkörnig sind. Die Kolonien der Säurebildner, speziell der *Coli*-Bacillen, sind etwa ebensogroß, intensiv grün, undurchsichtig, grobkörniger, ohne Furchenbildung, die Ränder meist glatt. Die hemmende Wirkung auf die Konkurrenzbakterien ist allerdings eine beschränkte, „bewegliche, stäbchenartige Mikroorganismen wimmeln auf ihm“; Strepto- und Staphylokokken gelangen nicht zur Entwicklung.

Schließlich hat dann noch Conradi²⁾ einen elektiven Nährboden angegeben, der zwei bisher praktisch noch nicht verwandte bakterizide Farbstoffe, das Brillantgrün Cryst. Höchst extra rein und die Pikrinsäure, enthält. Bei 3-proz. Agar begünstigen sie in den verwandten schwachen Konzentrationen (erstes 1:150 000, letztere 1:15 000) das Wachstum der Bakterien der Typhusgruppe, während sie Konkurrenzbakterien, besonders den *Coli*, mehr oder weniger hemmen, also im Sinn einer relativen Anreicherung für die ersteren wirken. Eine „Farbenreaktion“ tritt nicht ein. Dagegen sind die Typhus- und Paratyphuskolonien morphologisch gut charakterisiert. Nach 18–20-stündigem Wachstum bei 37° sind sie 2–3 mm im Durchmesser, glattrandig, hellgrün und durchsichtig, rundlich und flach mit leicht erhabenen Zentren.

Sehr kennzeichnend ist ein mattes Aussehen der Kolonie, besonders bei schräger Beleuchtung. Bei Lupenvergrößerung tritt die feinkörnige Struktur noch deutlicher hervor. Die Paratyphuskolonien sind noch üppiger gewachsen, oft in Rasen, ihre Farbe geht etwas ins Grüngelb. *Coli* ist stark gehemmt, dagegen können Bakterienarten aus der Gruppe der Heubacillen, *Alkaligenes* und *Proteus* gut gedeihen, auch bezüglich des Aussehens ihrer Kolonien leicht zu Verwechslungen mit Typhus Anlaß geben.

1) Padlewski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 540.

2) Conradi, Centralbl. f. Bakt. Beilage zu Abt. I. Bd. 42. Referate. p. 47.

Wie bereits erwähnt, prüften wir in vergleichenden Versuchsreihen von den neueren Typhusnährböden den von Kindborg, Conradi und von Padlewski angegebenen, von den älteren den Drigalski-Conradi- und den Endo-Agar, sowie das kombinierte Lentz-Tietzsche¹⁾ Verfahren. Bei der Herstellung der verschiedenen Nährböden hielten wir uns streng an die von den einzelnen Autoren gegebenen Vorschriften, nur verwandten wir beim Verfahren nach Lentz und Tietz für die Vorkultur nicht schwach saueren, sondern, entsprechend der Angabe in ihrer ersten Publikation, lackmusneutralen Agar.

Die Farbstoffe waren sämtlich von Grübler bezogen. Bei allen drei Malachitgrün enthaltenden Nährböden (Lentz-Tietz, Kindborg und Padlewski) kam das Malachitgrün Höchst Ia zur Verwendung.

Wie wichtig bei der Prüfung von elektiven Typhus-Nährböden auch die Verwendung von Rein- und Mischkulturen bzw. „künstlichen“ Typhusstühlen sein mag, speziell zur genauen quantitativen Bestimmung der Anreicherung, ausschlaggebend für die Praxis ist naturgemäß das Resultat bei Verwendung echter Dejekte von Typhuskranken, speziell Stuhlgang und Urin. Normal-Faeces, die, mit Typhusreinkultur gemischt, zur Verwendung gelangen, können eventuell sowohl bezüglich ihrer chemischen als auch bakteriellen Zusammensetzung Bedingungen bieten, die denen echter Typhusstühle durchaus nicht entsprechen, und diese Differenz, die auch auf das Wachstum von Typhuskeimen auf unseren elektiven Nährböden von Einfluß sein muß, kann leicht zu falschen Schlußfolgerungen führen. Aus diesem Grunde haben wir das Hauptgewicht auf Prüfung der Leistungsfähigkeit der verschiedenen Nährböden an natürlichem Untersuchungsmaterial, wie es dem Institute zugeht, geprüft. Gleichwohl sahen wir uns doch auch veranlaßt, mit Rein- bzw. Mischkulturen zu arbeiten. Die betreffenden Versuchsreihen sollten entscheiden, welcher Nährboden bereits geschädigte Typhuskeime noch am besten zur Entwicklung kommen läßt. Wir hatten nämlich des öfteren beobachtet, daß sich z. B. aus einem frischen Stuhlgange Typhusbacillen in Reinkultur oder doch in großer Menge züchten ließen, während aus demselben Material bereits nach 24 Stunden ganz spärliche oder überhaupt keine Kolonien mehr aufgingen, und zwar verhielten sich dabei die einzelnen Typhusnährböden nicht gleichsinnig, d. h., während der eine noch die Auffindung, wenn auch vereinzelter Kolonien, gestattete, versagte der andere völlig. Berücksichtigen wir das verschiedene Alter des Ausgangsmaterials und die dadurch an und für sich bedingte Schädigung der Typhusbacillen, sowie die gleichzeitig erfolgende Wucherung der Konkurrenz Bakterien, speziell der Fäulniskeime auf der einen, den mehr oder weniger starken, teilweise gänzlich fehlenden Gehalt der elektiven Nährböden an bakteriziden Agentien auf der anderen Seite, so kann uns diese Differenz von vornherein nicht wundernehmen.

Wir gingen von der begründeten Voraussetzung aus, daß selbst Aufschwemmungen von Bakterienreinkulturen in physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur eine wenn auch nur ganz allmähliche Schädigung erfahren, die sich bei Abimpfung auf elektive Nährböden

1) Mit dem Lentz-Tietzschen Verfahren bezeichnen wir hier lediglich die Aufschwemmungen der Malachitgrünplatte auf Drigalski-Agar, nicht die gleichzeitige Beimpfung einer oder zweier Originalblauplatten.

nach verschiedenen Zeitintervallen durch immer geringere Wachstumstendenz bzw. Sistierung des Wachstums zu erkennen geben muß. In der ersten Versuchsreihe verwandten wir zwei Sammlungsstämme, einen Typhus und als wichtigsten Konkurrenten einen Coli. Von den 24-stündigen Schrägagarkulturen schwemmten wir je eine Normalöse in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf. Je 4 ccm beider Aufschwemmungen wurden zu einer Mischung vereinigt. Wir hielten die Aufschwemmungen dunkel bei Zimmertemperatur. Sogleich nach ihrer Herstellung sowie nach 2, 5, 9, 12, 15, 19, 22, 24 Tagen (hier brachen wir den Versuch ab) impften wir je eine Oese auf die betreffenden Nährböden. Die Platten wurden bei 37° gehalten, nach 18—24 Stunden, eventuell auch noch nach 2 und 3mal 24 Stunden, kontrolliert. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle I.
Wachstum von Typhus, Coli sowie Typhus + Coli auf den verschiedenen Nährböden.

	Typhus	Coli	Typhus + Coli	
			Typhus	Coli
Malachitgrün	Bis zum 12. Tage deutliches Wachstum. Nach 15 Tagen auf d. Platte nichts zu erkennen; doch ergibt Abschwemmung auf Drigalski noch zahlreiche Kolonien. Vom 19. Tage an negativ.	Nach 24-stündiger Bebrütung niemals erkennbares Wachstum. Abschwemmung auf Drigalski ergibt jedoch noch bis zum 22. Tage positives Wachstum.	Die Malachitgrünplatte wird stets auf Drigalski abgeschwemmt: Bis zum 15. Tage positiv.	Noch nach 24 Tagen Wachstum.
Drigalski-Conradi	Bis zum 19. Tage positiv; Kolonien zuletzt allerdings kümmerlich gewachsen, spärlich. Am 22. Tage negativ.	Bis zum 24. Tage reichliches Wachstum.	Bis zum 15. Tage positiv, doch zuletzt sehr kümmerlich, spärlich.	Bis zum 24. Tage positiv.
Endo	Bis zum 24. Tage sehr reichlich.	Bis zum 24. Tage reichliches Wachstum.	Bis zum 24. Tage positiv, doch zuletzt spärlich.	Bis zum 24. Tage reichlich.
Kindborg	Bis zum 12. Tage positiv; doch ist Wachstum erst nach ca. 48 Stunden zu erkennen. Aufhellung tritt bis zu diesem Zeitpunkte niemals ein.	Niemals Wachstum.	Bis zum 12. Tage positiv; Wachstum erst nach ca. 48 Stunden zu erkennen. Aufhellung wird niemals beobachtet.	Niemals Wachstum.
Conradi	Bis zum 24. Tage positiv.	Bis zum 24. Tage Wachstum reichlich.	Bis zum 24. Tage positiv. Zuletzt sehr spärlich.	Bis zum 24. Tage reichl. Wachstum.
Padlewski	Bis zum 24. Tage positiv.	Bis zum 24. Tage reichliches Wachstum.	Bis zum 24. Tage positiv. Doch zuletzt sehr kümmerliches Wachstum.	Bis zum 24. Tage reichlich.

Ganz in der gleichen Weise prüften wir eine Paratyphus-B- und eine Coli-Aufschwemmung. Wir benutzten zu diesem Versuch ebenfalls Sammlungsstämme; die Coli-Kultur entsprach nicht der im ersten Versuch verwendeten (Tabelle II). Weiterhin orientierten wir uns über die Leistungs-

Tabelle II.

Wachstum von Paratyphus, Coli sowie Paratyphus + Coli auf den verschiedenen Nährböden¹⁾.

	Paratyphus	Coli	Paratyphus + Coli	
			Paratyphus	Coli
Malachitgrün	Bis zum 80. Tage kräftiges Wachstum saftiger Kolonien unter gelblicher Entfärbung des Nährbodens.	Niemals Wachstum.	Es wird regelmäßig zuerst das Wachstum auf der Malachitgrünplatte festgestellt und dann letztere auf Drigalski abgeschwemmt. Bis zum 8. Tage Wachstum, das anfangs üppig ist, zuletzt etwas schwächer wird. Vom 10. Tage an gehen keine Kolonien mehr auf.	Niemals Wachstum.
Drigalski-Conradi	Bis zum 80. Tage gutes Wachstum. Größe der Kolonien nimmt später durchschnittlich etwas ab.	Bis zum 80. Tage Wachstum; anfangs ist es üppiger als bei Paratyphus, zuletzt bleibt es jedoch hinter dem jener zurück.	Bis zum 18. Tage Wachstum, das jedoch von Anfang an und zuletzt immer mehr durch die üppig wuchernden Colikolonien übertriften wird.	Bis zum 8. Tage sehr gutes Wachstum, das jedoch wie bei Paratyphus am 10. Tage sistiert.
Endo	Bis zum 80. Tage üppiges Wachstum.	Bis zum 80. Tage üppiges Wachstum.	Bis zum 8. Tage Wachstum großer Kolonien.	Bis zum 8. Tage gutes Wachstum. Kolonien kleiner, aber etwas zahlreicher als die Paratyphuskolonien.
Kindborg	Bis zum 80. Tage gutes Wachstum unter gleichzeitiger Aufhellung des Nährbodens innerhalb der ersten 18 bis 24 Stunden.	Niemals Wachstum.	Wachstum anfangs sehr gut, in den letzten Tagen etwas dürtiger. Die Aufhellung erfolgt anfangs binnen 24 Stunden, zuletzt beginnt sie erst nach 2mal 24 Stunden.	Niemals Wachstum.
Conradi	Bis zum 80. Tage üppiges Wachstum.	Bis zum 80. Tage üppiges Wachstum.	Anfangs sehr zahlreiche, später spärlichere Kolonien, die üppig entwickelt sind.	Wachstum bleibt bezüglich Größe und Zahl der Kolonien hinter Paratyphus zurück, ist aber noch bis zum 8. Tage vorhanden.
Padlewski	Ueppiges Wachstum bis zum 80. Tage.	Reichliches Wachstum bis zum 80. Tage bei starker Grünfärbung der Kolonien.	Sehr gutes Wachstum bis zum 8. Tage.	Kolonien stehen an Zahl und Größe hinter Paratyphus zurück, sind stets intensiv grün gefärbt.

fähigkeit der 6 verschiedenen Nährböden gelegentlich des Nachweises von Typhusbacillen im Blut sicher an Typhus abdom. erkrankter Personen. Wir entnahmen das Blut aus der Armvene, mischten es in der Menge von ca. 2 ccm mit 10 ccm steriler Rindergalle. Nach durchschnittlich 20—24-stündiger Bebrütung (37°) wurden die Nährböden beimpft. Da es sich, falls überhaupt Typhusbacillen im Blut vorhanden

1) Am 80. Tage wurde der Versuch abgebrochen.

Tabelle III.

Wachstum der Typhuskolonien auf den verschiedenen Nährböden nach ihrer Beimpfung mit Galle-Blutkulturen.

Name des Kranken	Verweilen der Platten bei 37°	Malachitgrün	Drigalski-Conradi	Endo	Kindborg	Conradi	Padlewski
T.	15 Std.	+ schwach	—	+ reichlich	—	+ reichlich	+ reichlich
	24 „	+ reichlich	+ schwach	+ sehr reichlich	+ feinste Kolon.; keine Aufhellung.	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich
	34 „	+ „	+ mäßig stark	+ üppig	+ mäßig; beginnende Aufhellung	+ üppig	+ sehr reichlich
	48 „	+ sehr reichlich	+ reichlich	+ „	+ reichlich, mit mäßig starker Aufhellung	+ „	+ sehr reichlich
Gr.	bis zu 48 Std.	—	—	—	—	—	—
Schm.	15 „	+ schwach	—	+ mäßig	—	—	+ reichlich
	24 „	+ reichlich	+ schwach	+ reichlich	+ mäßig; keine Aufhellung	+ reichlich	+ sehr reichlich
	34 „	+ „	+ reichlich	+ „	+ etwas stärker; eben beginnende Aufhellung.	+ üppig	+ sehr reichlich
	48 „	+ „	+ „	+ sehr reichlich	+ reichlich, mit mäßig starker Aufhellung	+ „	+ sehr reichlich
B.	15 „	+ mäßig	—	+ reichlich	+ minimal; keine Aufhellung	+ reichlich	+ ziemlich reichlich
	24 „	+ reichlich	+ reichlich	+ „	+ etwas stärker; keine Aufhellung	+ sehr reichlich	+ reichlich
	34 „	+ „	+ „	+ sehr reichlich	+ mäßig stark; eben beginnende Aufhellung	+ sehr üppig	+ sehr reichlich
	48 „	+ „	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich	+ reichlich, mit mäßig starker Aufhellung	+ „ „	+ sehr reichlich
G. B.	15 „	+ gering	+ reichlich	+ reichlich	+ gering; keine Aufhellung	+ reichlich	+ reichlich
	24 „	+ etwas stärker	+ sehr reichlich	+ „	+ ziemlich reichlich; eben beginnende Aufhellung	+ üppig	+ „
	34 „	+ mäßig kräftig	+ üppig	+ üppig	+ reichlich; Aufhellung etwas stärker	+ „	+ sehr üppig
	48 „	+ mäßig kräftig	+ „	+ „	+ reichlich; ziemlich starke Aufhellung	+ „	+ „ „
J. B.	15 „	+ gering	+ reichlich	+ ziemlich reichlich	+ minimal; eben beginnende Aufhellung	+ ziemlich reichlich	+ reichlich
	24 „	+ reichlich	+ üppig	+ reichlich	+ mäßig; eben beginnende Aufhellung	+ üppig	+ üppig
	34 „	+ „	+ „	+ sehr reichlich	+ mäßig; Aufhellung etwas stärker	+ „	+ sehr üppig
	48 „	+ „	+ „	+ sehr reichlich	+ mäßig; Aufhellung mäßig stark	+ „	+ „ „
Bg.	bis zu 48 Std.	—	—	—	—	—	—

Name des Kranken	Verweilen der Platten bei 37°	Malachitgrün	Drigalski-Conradi	Endo	Kindborg	Conradi	Padlewski
Fr. B.	12 Std.	+ minimal	+ reichlich	+ sehr reichlich	+ ganz minimal; keine Aufhellung	+ reichlich	+ üppig
	34 „	+ mäßig	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich	+ gering; eben beginnende Aufhellung	+ sehr reichlich	+ „
M. B.	bis zu 34 Std.	—	—	—	—	—	—
M.	20 „	—	+ üppig	+ reichlich	—	+ reichlich	+ sehr reichlich
	45 „	+ reichlich	+ „	+ üppig	+ gering; keine Aufhellung	+ sehr üppig	+ üppig
Fr. K.	12 „	—	+ reichlich	+ reichlich	+ eben beginnend; keine Aufhellung.	+ reichlich	+ reichlich
	36 „	+ reichlich	+ üppig	+ üppig	+ reichlich; mäßige Aufhellung	+ sehr üppig	+ sehr üppig
G. F.	12 „	—	+ reichlich	+ reichlich	+ minimalstes Wachstum; keine Aufhellung	+ reichlich	+ mäßig
	36 „	+ reichlich	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich	+ reichlich; Aufhellung gering	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich
Sch.	12 „	+ minimal	+ sehr reichlich	+ reichlich	+ minimal; keine Aufhellung	+ reichlich	+ sehr reichlich
	36 „	+ reichlich	+ üppig	+ sehr reichlich	+ reichlich; Aufhellung gering	+ sehr reichlich	+ üppig
W.	12 „	+ sehr gering	+ minimal	+ gering	—	+ gering	+ gering
	48 „	+ mäßig	+ reichlich	+ reichlich	—	+ reichlich	+ reichlich
Sch.	14 „	—	+ minimal	+ reichlich	—	+ reichlich	+ reichlich
	20 „	—	+ mäßig	+ sehr reichlich	—	+ sehr reichlich	+ „
	33 „	—	+ reichlich	+ sehr reichlich	—	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich
Kr.	8 „	—	—	+ gering	—	+ mäßig	+ gering
	20 „	+ mäßig	+ mäßig	+ etwas stärker	—	+ üppig	+ sehr reichlich
Pr.	8 „	—	—	+ gering	—	+ gering	+ gering
	20 „	+ gering	+ mäßig reichlich	+ ziemlich reichlich	—	+ üppig	+ sehr reichlich
M.	12 „	—	+ spärlich	+ spärlich	—	+ spärlich	+ mäßig
Mang.	12 „	+ spärlich	+ reichlich	+ reichlich	—	+ reichlich	+ reichlich
Fr.	bis zu 24 Std.	—	—	—	—	—	—
Tri.	bis zu 24 Std.	—	—	—	—	—	—
Har.	bis zu 24 Std.	—	—	—	—	—	—
Gr.	13 „	+ minimal	+ mäßig	+ mäßig	+ minimal; keine Aufhellung	+ gering	+ mäßig
Sch.	16 „	—	+ reichlich	+ mäßig	—	—	+ reichlich
	24 „	—	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich	—	+ reichlich	+ sehr reichlich
	38 „	—	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich	—	+ sehr reichlich	+ sehr reichlich

Aussaat der Galle-Blutkultur nach verschiedenen Intervallen.

Name des Kranken	Bebrütungs- dauer der Galle- Blutkultur	Wachstums- dauer	Malachit- grün	Drigalski- Conradi	Endo	Kindborg	Conradi	Padlewski
Tr.	5 Std.	bis zu 24 Std.	—	—	—	—	—	—
	14 „	24 „	—	+ mäßig	+ reichlich	—	+ reichlich	+ sehr reich- lich
		36 „	—	+ reichlich	+ sehr reich- lich	—	+ sehr reich- lich	+ sehr reich- lich
		48 „	—	+ sehr reich- lich	+ sehr reich- lich	—	+ sehr reich- lich	+ üppig
	22 „	16 „	—	+ sehr reich- lich	+ sehr reich- lich	—	+ sehr reich- lich	+ sehr reich- lich
		22 „	—	+ sehr reich- lich	+ üppig	—	+ üppig	+ üppig
		36 „	+ mini- mal	+ üppig	+ „	+ minimal; keine Auf- hellung	+ „	+ „
Schm.	4 „	bis zu 24 Std.	—	—	—	—	—	—
	14 „	8 „	—	+ minimal	—	—	+ minimal	+ minimal
		18 „	—	+ mäßig reichlich	+ mäßig	—	+ mäßig	+ mäßig
W.	14 „	8 „	—	+ minimal	+ minimal	—	—	+ minimal
		24 „	+ mini- mal	+ ziemlich reichlich	+ ziemlich reichlich	—	+ mäßig	+ mäßig reichlich
	17 „	5 „	—	+ minimal	+ minimal	—	—	+ minimal
		23 „	+ mini- mal	+ ziemlich reichlich	+ ziemlich reichlich	—	+ mäßig	+ mäßig reichlich

gewesen, praktisch genommen um Reinkulturen handelte, so kam es bei diesen Versuchsreihen weniger darauf an, nachzuweisen, ob überhaupt und auf welchem Nährboden Typhusbacillen wuchsen. Wir suchten in erster Linie festzustellen, welcher Nährboden für die Bacillen bei ihrer Reinzüchtung aus dem Blut die günstigsten Entwicklungsbedingungen bietet, mit anderen Worten, auf welchem sie am frühesten deutliche Kolonien mit den für das betreffende Nährmedium charakteristischen Eigenschaften bilden, die eine Identifizierung gestatten. Wir entnahmen daher nach verschiedenen Zeitintervallen die Platten dem Brutschranke und stellten das Wachstum fest.

Um nach dieser Richtung praktisch noch bedeutungsvollere Ergebnisse zu bekommen, modifizierten wir den Versuch einige Male noch in der Weise, daß wir sowohl nach verschiedenen Intervallen der Bebrütung der Blutgalleröhrchen auf die Nährbodenserie abimpften und dann außerdem die einzelnen Plattenreihen in bezug auf das eingetretene Wachstum von Kolonien wiederholt kontrollierten.

Vorstehende Tabelle III gibt die gewonnenen Resultate wieder.

Es wurden also im ganzen 27 Blutproben untersucht. Davon ergaben überhaupt ein positives Resultat innerhalb der notierten Be-

obachtungszeiten 21 = 78 Proz., während bei 6 = 22 Proz. auf keinem der Nährböden etwas gewachsen war. Bei diesen 6 Fällen waren also tatsächlich keine Typhusbacillen im Blut vorhanden.

Die positiven Resultate verteilen sich folgendermaßen. Innerhalb der angegebenen Beobachtungszeiten konnte das Wachstum von Typhuskolonien festgestellt werden auf:

Malachitgrün	in 17 Fällen (63 Proz.)
Drigalski-Conradi	„ 21 „ (78 „)
Endo	„ 21 „ (78 „)
Kindborg	„ 12 „ (44 „)
Conradi	„ 21 „ (78 „)
Padlewski	„ 21 „ (78 „)

Uns war, wie bereits erwähnt, bei dieser Versuchsreihe vor allem daran gelegen, festzustellen, auf welchem Nährboden sich die Bedingungen für einen möglichst schnellen Nachweis der Typhusbacillen im Blut am günstigsten gestalten.

Setzen wir, um darüber ins Klare zu kommen, nun die positiven bzw. negativen Ergebnisse unserer Kulturversuche auf den Nährböden in Beziehung zu der jedesmaligen Bebrütungsdauer der Platten, so erhalten wir folgende Uebersicht:

Zahl der positiven bzw. negativen Befunde													
nach einer Bebrütungs- dauer der Platten von	von untersuchten Proben	auf											
		Malachit- grün		Drigalski- Conradi		Endo		Kindborg		Conradi		Pad- lewski	
		+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
5 Stunden	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0
8 „	4	0	4	2	2	3	1	0	4	3	1	4	0
12 „	7	4	3	5	2	7	0	3 (ohne Aufhel- lung)	4	7	0	7	0
13 „	1	1	0	1	0	1	0	1 (ohne Aufhel- lung)	0	1	0	1	0
14 „	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
15 „	5	5	0	3	2	5	0	3 (2 ohne Aufhel- lung)	2	4	1	5	0
16 „	2	0	2	2	0	2	0	0	2	1	1	2	0
18 „	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
20 „	4	2	2	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0
22 „	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
23 „	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
24 „	7	6	1	7	0	7	0	5 (3 ohne Aufhel- lung)	2	7	0	7	0
33 „	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
34 „	6	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0
36 „	5	4	1	5	0	5	0	4 (1 ohne Aufhel- lung)	1	4	1	5	0
38 „	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
45 „	1	1	0	1	0	1	0	1 (ohne Aufhel- lung)	0	1	0	1	0
48 „	7	6	1	7	0	7	0	5	2	7	0	7	0

Als wichtigsten Prüfstein für die Leistungsfähigkeit die Nährböden im Nachweise der Typhusbacillen hatten wir naturgemäß der Verwendung von echten Typhusdejekten zu erachten.

Wir untersuchten Faeces und Urin von Patienten, deren Erkrankung durch den Nachweis der Bacillen im Blute bzw. von Agglutininen im Serum sichergestellt war. Proben aus den verschiedenen Stadien der Infektion kamen zur Verwendung, frisches Material und auch mehrere Tage altes.

Um nicht zu viel Material zu verbrauchen, benutzten wir von jedem Nährmedium in jeder Reihe nur eine große oder 3 kleine Platten. Jeden Nährboden beschickten wir mit ungefähr der gleichen Menge des Ausgangsmaterials.

Die Platten wurden in der Regel gegen Ende des ersten Bebrütungstages (nach 18—22 Stunden) zum erstenmale durchmustert und dann nach weiterem 20—24-stündigem Aufenthalte im Brutschranke nochmals kontrolliert.

Bei unseren Aufzeichnungen berücksichtigten wir nicht das quantitative Verhältnis der Typhuskolonien zu anderen Arten, sondern notierten lediglich, ob positiver oder negativer Befund vorhanden war. Die beiden letzten Tabellen geben die so erzielten Resultate übersichtlich wieder.

Tabelle IV a.

Nachweis von Typhuskolonien auf den verschiedenen Nährböden bei Verwendung von Faeces als Ausgangsmaterial.

No.	Malachit-Drigalski	Drigalski-Conradi	Endo	Kindborg	Conradi	Padlewski
1	—	+	+	+	+	+
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	+	—	+	—	+	+
5	—	—	—	—	+	+
6	—	—	+	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	+
9	+	+	+	+	+	+
10	—	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	+	—
13	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	+	+
16	—	—	+	—	—	—
17	—	—	—	—	+	+
18	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—
22	—	—	—	—	—	—
23	—	—	+	+	—	+
24	—	+	+	—	+	—
25	—	—	—	—	—	—
26	—	+	—	—	—	+
27	—	—	—	—	—	—
28	—	—	—	—	—	—
29	+	+	+	—	+	+
30	—	+	—	—	—	—
31	—	—	—	—	—	—

Tabelle IV b.

Nachweis von Typhuskolonien auf den verschiedenen Nährböden bei Verwendung von Urin als Ausgangsmaterial.

No.	Malachit-Drigalski	Drigalski-Conradi	Endo	Kindborg	Conradi	Padlewski
1	—	—	—	—	—	—
2	+	+	+	—	+	+
3	+	+	+	—	+	+
4	+	+	+	—	+	+
5	+	+	+	—	+	—
6	—	—	+	—	+	+
7	+	+	+	—	+	+
8	—	—	—	—	—	—
9	—	+	+	—	+	+
10	—	+	+	—	+	+
11	—	+	+	—	+	+
12	—	+	+	—	+	+
13	+	—	+	—	—	+
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	—
17	—	+	+	—	+	+
18	—	+	+	—	+	+
19	—	+	+	—	+	+
20	+	+	+	—	+	+
21	—	—	—	—	—	—
22	+	+	+	—	+	+

Es handelte sich also insgesamt um 53 Proben; von denen waren überhaupt positiv 31 = 58 Proz., negativ 22 = 42 Proz.

Das Ergebnis war:

auf	positiv	negativ
Malachitgrün-Drigalski	11mal (21 Proz.)	42mal (79 Proz.)
Drigalski-Conradi	20 " (38 ")	33 " (62 ")
Endo	24 " (45 ")	29 " (55 ")
Kindborg	3 " (6 ")	50 " (94 ")
Conradi	24 " (45 ")	29 " (55 ")
Padlewski	25 " (47 ")	28 " (53 ")

Trennen wir nun das Untersuchungsmaterial in Faeces und Urine, so ergibt sich folgende Uebersicht:

Von 31 Stuhlproben waren:

auf	positiv	negativ
Malachitgrün-Drigalski	3mal (10 Proz.)	28mal (90 Proz.)
Drigalski-Conradi	6 " (19 ")	25 " (81 ")
Endo	8 " (26 ")	23 " (74 ")
Kindborg	3 " (10 ")	28 " (90 ")
Conradi	9 " (29 ")	22 " (71 ")
Padlewski	10 " (32 ")	21 " (68 ")

Von 22 Urinproben waren:

auf	positiv	negativ
Malachitgrün-Drigalski	8mal (36 Proz.)	14mal (64 Proz.)
Drigalski-Conradi	14 „ (64 „)	8 „ (36 „)
Endo	16 „ (73 „)	6 „ (27 „)
Kindborg	— —	22 „ (100 „)
Conradi	15 „ (68 „)	7 „ (32 „)
Padlewski	15 „ (68 „)	7 „ (32 „)

Bei sicher positivem Befunde (Typhuskolonien auf mindestens einer Nährbodenart) versagte

Malachitgrün-Drigalski	20mal
Drigalski-Conradi	11 „
Endo	7 „
Kindborg	28 „
Conradi	7 „
Padlewski	6 „

In je einer Nährbodenreihe konnten Typhuskolonien nachgewiesen werden

nur auf Malachitgrün-Drigalski	0mal
„ „ Drigalski-Conradi	1 „
„ „ Endo	2 „
„ „ Kindborg	0 „
„ „ Conradi	1 „
„ „ Padlewski	1 „

Wenden wir uns nun zu einer eingehenderen Besprechung der Beobachtungen, die wir beim Arbeiten mit den verschiedenen Nährböden gemacht haben, und denen wir die anderer Untersucher, soweit es uns erforderlich erscheint, um ein objektives Bild der tatsächlichen Verhältnisse zu entwerfen, gegenüberstellen wollen, so mag hier an erster Stelle nochmals eine kurze tabellarische Uebersicht über das Wachstum der beim Typhusbacillennachweis vorwiegend in Frage kommenden Species auf den einzelnen Nährmedien ihren Platz finden. Die Daten entnehmen wir den Originalarbeiten der betreffenden Autoren über das von ihnen angegebene Verfahren (s. Tabelle p. 602).

Der einfache Malachitgrünagar allein dürfte wohl nirgends mehr zum Nachweise von Typhusbacillen verwandt werden, sondern lediglich im kombinierten Verfahren nach Lentz und Tietz. Löffler selbst sah sich ja veranlaßt, ihn durch einen Nutrose-Gallezusatz und neuerdings durch eine Kombination mit Reinblau und Safranin für praktische Zwecke gebrauchsfähiger zu machen. Die dem einfachen Malachitgrünagar anhaftenden Mängel schmälern aber keineswegs seine große Bedeutung, die er vor allem in historischer Hinsicht für die Entwicklung des kulturellen Nachweises der Typhusbacillen in den Dejekten besitzt. Ueberdies steht er als Nährboden für den Paratyphusbacillus B unübertroffen da. Denn auch unsere Erfahrungen nach dieser Richtung sprechen durchaus im Sinne v. Drigalskis: „für den Paratyphusnachweis leistet die Löfflersche Malachitgrünplatte alles, was überhaupt von einer Anreicherung verlangt werden kann“¹⁾. Außerdem sei gleich vorweg bemerkt, daß der Padlewski-Nährboden, der

1) Diskussionsbemerkung auf der 2. Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie. (Centralbl. f. Bakt. Beilage zu Abt. I. Bd. 42. Referate. p. 49.)

Wachstum von Typhus, Coli und einigen anderen Bakterienarten auf den verschiedenen elektiven Nährböden.

	Typhusbacillen	Bact. coli	Andere Bakterienarten
Malachitgrünagar (Lentz-Tietz)	Nach 24 Std. bei 37° sandkorngröße, mit bloßem Auge erkennbare, helle Kolonien, die sich im Verlaufe von weiteren 1—3 × 24 Std. kräftig entwickeln und den Agar gelb färben.	Die gewöhnlichen Arten werden stark gehemmt oder wachsen gar nicht.	Paratyphus: nach 16—20-stündig. Wachstum bei 37° 2—3 mm im Durchmesser haltende, glasig durchscheinende, leicht milchig getrühte Kol., die den Agar in ihrer Umgebung leicht gelblich verfärben. Eine sehr kleine Reihe von coli- bzw. alkalibildenden Stämmen wächst ähnlich. Kokken- u. Proteusarten wachsen meist nicht, ebenso eine ganze Reihe von Alkalibildnern.
Drigalaki-Conradi-Agar	Nach 16—24 Std. bei 37° 1—3 mm im Durchm. betragende, glasige, nicht doppelt konturierte, taupfropfenähnliche blaue Kolonien (mit einem Stich ins Violette).	Nach 16—24 Std. bei 37° leuchtend rote, nicht durchsichtige, 2—6 und mehr Millimeter im Durchm. haltende Kol., bald gekörnt, bald mehr homogen; teilweise Rötung des umgebenden Agars.	Bakterien der Subtilis-Gruppe wachsen blau, ihre Kolonien sind aber groß wie Coli, oft doppelt konturiert, speckig, zuweilen „genabelt“. Proteus-, Fluorescens-, Faecalis-alkalig.-Arten ähnlich wie Typhus, nur größere Kolonien. Kokkenarten, verschiedene Alkali- und Säurebildner, Sarcinearten werden gehemmt.
Endo-Agar	Nach 15—24 Std. bei 37° farblose, am Rande dünne Kolonien, die allmählich doppelt so groß wie Coli-Kolonien werden.	Nach 15—24 Std. bei 37° sich vom Zentrum nach der Periph. zu rötende Kol., die rund und am Rande erhaben sind. Nach mehr als 24 Std. Fuchsinglanz der Kol.	(Im Original nichts angegeben.)
Kindborg-Agar	Nach 12—24 Std. bei 37° helle Punkte auf purpurnem Grunde; nach 48 Std. ist die Entfärbungsreaktion noch weiter fortgeschritten.	Coli wird teils gehemmt, teils wächst er als in der Farbe mit dem Nährboden nicht kontrastierende Kolonie.	Paratyphus wächst wie Typhus, nur noch üppiger. Proteusarten und andere Saprophyten mit Entfärbungsvermögen werden gehemmt.
Conradi-Agar	Nach 18—20 Std. bei 37° 2—3 mm im Durchm. betragende, glattrandige, durchsichtige, hellgrüne, rundliche, flache, in der Mitte etwas dickere Kol. Bei schräg auffallendem Lichte mattes Aussehen. Bei 10-facher Lupenvergrößerung wird die hellglänzende, feinkörnige Struktur d. Kol. deutlich.	Wird gehemmt, bzw. völlig ausgeschaltet.	Paratyphus-Kolonie ähnlich wie Typhus, nur größer, üppiger, mehr ins Gelbgrün spielend; oft Riesenkolon. und Rasen, die sich durch relative Durchsichtigkeit, spiegelnde Oberfläche, Randbuchten, Fehlen feingezackten Ränder auszeichnen. Heubacillus-, Alcaligenes-, Proteusarten wachsen ähnlich oder genau wie Typhus.
Padlewski-Agar	Nach 24 Std. bei 37° große, durchsichtige, etwas trübe Kol. Bei schwacher Vergr.: gekerbte Ränder, feine Furchenbildung, feinkörnig, goldgelblich. Oft geschichteter Bau der Kolonie.	Etwa so groß wie Typhus, großkörniger, undurchsichtig, grünlich braun, ohne Furchenbildung, Ränder glatt oder wie bei Typhus.	Paratyphus wie Typhus. Dysenteriebacillen, Cholera-vibrionen gedeihen üppig. Strepto- und Staphylokokken des Kotes werden unterdrückt. Bewegliche, stäbchenartige Mikroorganismen wachsen reichlich.

ja im Grunde nur eine Modifikation der alten Löffler-Platte ist, von allen elektiven Nährböden das beste zu leisten scheint.

Die ursprüngliche Annahme, daß ein Malachitgrünzusatz zu Agar in bestimmter Konzentration das Wachstum von Typhusbacillen gestattet, ja sogar begünstigt, während zugleich die übrigen Konkurrenzbakterien, vor allem das *Bact. coli*, gehemmt werden, hat sich keineswegs durchgehend bestätigt. Die Differenzen sind vorwiegend durch zwei Momente begründet: einmal durch die Inkonzanz der Malachitgrünpräparate, die an und für sich verschieden wirksam sind, die andererseits durch längeres Aufheben an bakterizider Wirkung verlieren und die außerdem durch Abweichungen des Alkaleszenzgrades des Agars nach dieser Richtung beeinflusst werden. So ist es denn zu erklären, daß, „je mehr darüber gearbeitet worden ist, desto verschiedener wurden die Angaben, welche Malachitgrünsorte anzuwenden sei, welche Konzentration derselben, welcher Reaktionspunkt des Nährbodens am günstigsten, wie stark die Hemmung der Typhusbacillen sei“ (Doebert)¹⁾.

Der wesentlichste Grund aber, der die Resultate bei Verwendung des Malachitgrüns auch bei ein und derselben Konzentration ein und desselben Präparates so inkonstant macht, ist die Tatsache, die bereits Doebert¹⁾, Novak²⁾, Fürth³⁾ u. a. feststellten und die wir nur bestätigen können, daß die einzelnen Typhus- und Coli-Stämme — um bloß von diesen zu reden — in ihrer Malachitgrünresistenz erheblich voneinander abweichen. Einige Typhusstämmen wachsen noch gut, während andere vollkommen gehemmt werden, und das Umgekehrte gilt in gleicher Weise für die Coli-Stämme.

In unseren ersten beiden Versuchsreihen (Tab. I und II) erhielten wir allerdings bezüglich Coli günstige Resultate insofern, als nach 24-stündiger Bebrütungsdauer Coli-Kolonieen makroskopisch auf den Platten nicht zu erkennen waren, während freilich (Tab. I) die Abschwemmungen auf Drigalski bis zum Abschluß des Versuches am 24. Tage ein positives Ergebnis zeitigten. In der zweiten Versuchsreihe blieb das Coli-Wachstum überhaupt aus. Typhuskolonieen wuchsen auf den Aufschwemmungen noch nach 12 Tagen makroskopisch sichtbar; nach 13 Tagen ist wenigstens durch Abschwemmung noch ein positives Resultat zu erzielen, während nach 19 Tagen jedes Wachstum sistiert. Weniger beeinträchtigt die geschädigten Typhusbacillen der Drigalski-Nährboden (Wachstum noch nach 19 Tagen), am wenigsten Endo, Conradi und Padlewski (positiv bis zum Abbruch der Versuche am 24. Tage). Endo-Agar, der überhaupt keine bakteriziden Stoffe enthält, gestattete da sogar noch „reichliches“ Wachstum.

Die bereits erwähnte differierende Resistenz der einzelnen Typhusstämmen lassen die Ergebnisse der Blutkulturversuche (Tab. III) deutlich hervortreten. Bei einigen Stämmen war bereits 12 Stunden nach Beimpfung der Platte mit Galleblutkultur ein Wachstum zu konstatieren, bei einigen war es erheblich verzögert, bei 2 trat es innerhalb der betreffenden Beobachtungszeit überhaupt nicht ein, während

1) Doebert, Arch. f. Hyg. Bd. 59. 1906. p. 370.

2) Novak, Arch. f. Hyg. Bd. 53. 1905. p. 374.

3) Fürth, Centralbl. f. Bakteriolog. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 81.

auf den anderen Nährböden dieser Reihen Kolonien reichlich gewachsen waren.

Der Fortschritt, den seinerzeit die Methodik des Typhusbacillennachweises durch die Einführung des Lackmusnutrosemilchzuckerkrystallvioletttagars in der bakteriologischen Technik machte, war ein ganz bedeutender und trotz aller Neuerungen auf diesem Gebiete hat sich der Nährboden zu behaupten gewußt und wird zur Zeit noch in zahlreichen Laboratorien — auch bisher in dem unserem Institut angegliederten Untersuchungsamte — sehr gern benutzt. Diese Beliebtheit ist wohlbegründet. Der Nährboden gestattet in relativ kurzer Zeit (18—20 Stunden) das Züchten von Typhuskeimen und ihre Identifizierung unter Anwendung der probatorischen Agglutination mit ziemlicher Sicherheit. Die Unterscheidungsmerkmale der Typhuskolonien gegenüber denen des wichtigsten Konkurrenten, des *Bac. coli*, sind im allgemeinen recht prägnant. Immerhin weist doch der Lackmusnutrosemilchzuckerkrystallvioletttagar nicht unerhebliche Mängel auf, die eben zum Suchen nach neuen Methoden Veranlassung gaben: einmal seine nicht ganz einfache Herstellung und der erhebliche Preis. (Die Herstellungskosten betragen nach unseren Berechnungen inkl. Brenngas etc. etwa 2,59 M. pro Liter.) Doch würden diese Momente, wenn er im übrigen allen Anforderungen entspräche, nicht allzusehr ins Gewicht fallen. Viel bedeutungsvoller ist die Tatsache, daß die Konkurrenzbakterien, wenn überhaupt, so doch nur verhältnismäßig wenig in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Gerade die *Coli*-Bakterien, die zwar durch die Farbenreaktion erkennbar sind, wuchern ebenso üppig, fast sogar noch stärker, als die Typhuskeime. Die durch die meist großen *Coli*-Kolonien aus dem Milchzucker abgespaltene Säure diffundiert stark in den Agar, trotz seiner Konzentration von 3 Proz., und gibt so Veranlassung zu einer oft ganz diffusen Rotfärbung der Platte. Immerhin erscheint uns, wie auch Kutscher¹⁾, dieser Nachteil nicht so erheblich, wie er von anderen Autoren hingestellt wird. Die Typhuskolonien sind wegen ihrer so überaus charakteristischen, tautropfenartigen Beschaffenheit fast immer auch auf dem geröteten Grunde zu erkennen. Weiterhin ist dem Einwande, daß auch andere Keime der Typhusgruppe, der Paratyphus A und B, der *Bac. enterit. Gärtner* etc. kaum oder überhaupt nicht von Typhus auf der Blauplatte zu unterscheiden sind, trotz der ja gelegentlich beobachteten „alimentären Ausscheidung von Paratyphusbacillen“, nicht allzu große Bedeutung, wenigstens in praktischer Hinsicht, beizumessen, zudem eine sichere Identifizierung sowieso durch Prüfung mittelst der Zuckernährböden, der Lackmusmolke etc. einerseits und des Verhaltens im biologischen Versuch andererseits erforderlich ist.

Viel mehr fällt dagegen ein anderer Umstand ins Gewicht: eine ganze Reihe saprophytischer Darmbewohner wachsen auf der Blauplatte ähnlich oder sogar oft genau so wie die Typhusbacillen und sind makroskopisch nur schwer, manchmal überhaupt nicht von ihnen zu unterscheiden, speziell *Faecal. alcaligenes* und Angehörige der *Proteus*-Gruppe. Deswegen geben nicht ganz frische Typhusstühle, besonders im Sommer, häufig ein negatives Resultat.

1) Kutscher, im Handbuch von Kolle-Wassermann.

Die Fäulniskeime übertreffen die Typhusbacillen erheblich an Zahl im Ausgangsmaterial und werden auf der Platte in der Entwicklung nicht zurückgehalten. Andere, ebenfalls „blau“ wachsende Arten lassen sich dagegen durch das morphologische Verhalten der Kolonien unschwer von denen des Typhus unterscheiden. Die angebliche starke Behinderung des Wachstums von Kokkenarten durch den Kristallviolettzusatz haben wir vielfach, besonders auch gelegentlich ausgedehnter Untersuchungen der Lochialsekrete fiebernder Wöchnerinnen, vermißt. Wenn auch die betreffenden Kolonien sich morphologisch meist von denen des Typhus unterscheiden, so haben wir doch mehrmals weitgehendste Uebereinstimmung gefunden. Immerhin glauben wir auf Grund unserer Erfahrungen sagen zu dürfen, je länger man mit dem Nährboden arbeitet, um so seltener werden Fehldiagnosen. Die Typhuskolonie hat doch auf dem Blauagar in ihrem ganzen Habitus etwas sehr Charakteristisches, ohne daß es sich bis in alle Einzelheiten genau definieren ließe.

Daß der Kristallviolettzusatz auch das Wachstum der Typhusbacillen — des einen Stammes mehr, des andern weniger — beeinträchtigt, erscheint uns zweifellos. Eigentlich stets wuchsen die Kolonien auf dem Endo-Nährboden, der keine bakterizide Substanz enthält, üppiger als auf dem Blauagar, zum mindesten innerhalb der ersten 24 Stunden. Auch in unserer ersten Versuchsreihe kommt die Beeinträchtigung der bereits geschädigten Keime durch das Kristallviolett zum Ausdruck. Auf dem Blauagar sistiert das Wachstum am 19. Tage, auf dem Endo-Agar war es beim Abschluß des Versuches, am 24. Tage, noch reichlich, auf Conradi und Padlewski, wenn auch mäßig, so doch immerhin positiv. Auch die Versuchsreihe III läßt auf dem Drigalski zwar nicht ein Ausbleiben des Wachstums wie gelegentlich auf Malachitgrünagar, aber doch mehrfach eine Verzögerung im Vergleich zu einigen der anderen geprüften Nährböden erkennen. In der IV. Versuchsreihe kommt ebenfalls eine Ueberlegenheit der eben genannten Nährböden gegenüber dem Blauagar rein ziffernmäßig zum Ausdruck.

Die von Lentz und Tietz angegebene Kombination des Malachitgrün- und des Drigalski-Agars mußte von vornherein als ein sehr glücklicher Gedanke erscheinen. Und tatsächlich hat sich das Verfahren vielfach bewährt.

Die beiden Autoren selbst bekamen eine Verbesserung der Resultate gegenüber den mit der einfachen Blauplattemethode gewonnenen um fast 25 Proz.¹⁾ Auch Jorns²⁾, Klinger³⁾, Grimm⁴⁾ u. a. mehr rühmen die Methode. Um so auffallender muß es erscheinen, daß wir im allgemeinen recht ungünstige Ergebnisse zu verzeichnen haben. Gleich an dieser Stelle möchten wir darauf hinweisen, daß nach mehreren Notizen in der betreffenden Literatur unsere jetzigen Befunde früheren angeblich in unserem Institute gewonnenen zu widersprechen scheinen. Soviel wir ersehen können, zitiert Reischauer zum ersten Male Sobernheim: „Auch Sobernheim erwähnt, daß Versuche im

1) Lentz und Tietz, Klin. Jahrb. 1905. p. 494.

2) Jorns, Hyg. Rundschau. 1904. No. 15. p. 713.

3) Klinger, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 24. p. 35.

4) Grimm, Hyg. Rundschau. 1909.

Hallenser Institut“ (eben mit dem Verfahren Lentz und Tietz) „äußerst befriedigende Resultate ergaben“. In Wirklichkeit lautet die betreffende Stelle in dem Vortrage Sobernheims auf der 3. Hauptversammlung des Medizinalbeamtenvereins in Danzig: „Besonders günstige Resultate wollen Lentz und Tietz durch Kombination erzielt haben“. Offenbar ist Reischauer ein Versehen unterlaufen, das um so begreiflicher erscheint, als Sobernheim kurz vor diesem Passus die stark Coli-hemmende Wirkung des ursprünglichen Löfflerschen Methylgrünnährbodens rühmend hervorhebt. Die übrigen Autoren, die Sobernheim zitieren, haben wohl gar nicht das Original gelesen, das allerdings für gewöhnlich nicht in Bibliotheken bakteriologischer Institute zu finden ist, sondern nur die irrtümliche Bemerkung Reischauers.

Wir hielten uns bei unserem Vorgehen fast ganz genau an die Vorschrift von Lentz und Tietz, nur verwandten wir entsprechend ihrer ersten Publikation neutralen Agar und nicht schwach sauren, wie sie in der zweiten empfehlen. Vielleicht sind darauf zum Teil unsere schlechten Erfolge zurückzuführen. Aus alkalisch reagierenden Stühlen sollen auf neutralem Agar übermäßig viele Kolonien alkalibildender Stäbchen aufgehen, welche die etwa vorhandenen Typhusbacillen überwuchern. Vielleicht eignete sich auch unser Malachitgrünpräparat, das wir genau nach der Vorschrift in der Konzentration 1:600 benutzten, nicht. Die Inkonstanz dieses Farbstoffes nach dieser Richtung ist ja bekannt.

Unsere Ergebnisse waren auffallend wechselnd. Einmal war das Resultat vorzüglich, eine erhebliche Anreicherung auf den Abschwemmungsplatten gegenüber den Originalplatten zu konstatieren, ein anderes Mal überwogen Kolonien von Coli oder von Alkalibildnern bzw. waren allein gewachsen. Zweifellos spielt hier auch die oben erwähnte, für die einzelnen Stämme einer Bakterienart nicht unerheblich wechselnde Empfindlichkeit gegenüber dem Malachitgrün eine gewisse Rolle. Ferner trifft selbst bei vorsichtigstem Arbeiten die Behauptung von Jorns¹⁾ keineswegs regelmäßig zu, daß bei der Abschwemmung die Coli-Kolonien auf dem Agar haften bleiben oder sich höchstens in toto ablösen, ohne sich, wie die Typhuskolonien, in der überstehenden Flüssigkeit zu verteilen. Die betreffenden Angaben auf Tabelle I lassen die Abweichung von dieser Regel deutlich erkennen.

Immerhin wollen wir nicht gegenüber den vielfachen, wenn auch nicht durchgehends günstigen Urteilen anderer Autoren auf Grund unserer Versuchsergebnisse das Lentz-Tietzsche Verfahren gering bewerten. Vielleicht erhalten auch wir mit einem anderen Malachitgrünpräparat und bei schwach saurer Reaktion des Agars bessere Resultate. Aber auch an und für sich haften dem Verfahren einige Mängel an: einmal die Umständlichkeit, die lange Dauer bis zur Sicherstellung der Diagnose, die erst 24 Stunden später erfolgen kann als bei Verwendung anderer Methoden. Die Kosten sind naturgemäß recht erhebliche.

Die Vorzüge des Endo-Agars bedingen zugleich auch seine Mängel. Da er keinerlei bakterizide Stoffe enthält, können sich Typhusbacillen,

1) Jorns, Hyg. Rundschau. 1904. p. 713.

auch solche, die bereits in ihrer Wachstumsfähigkeit geschwächt sind, ungehindert entwickeln.

So sehen wir denn in unserer ersten Versuchsreihe (Tabelle I) von allen geprüften Nährböden den Endo-Agar die günstigsten Bedingungen nach dieser Richtung bieten.

Weiterhin gestattet er aus dem gleichen Grunde, infolge fehlender Wachstumsbehinderung, eine frühzeitige Identifizierung der Typhuskolonien. Wie die Tabelle III erkennen läßt, steht er in dieser Beziehung nur wenig hinter dem Padlewski-Nährboden zurück. Seine Mängel beruhen, wie dies von Herberich¹⁾, Ruata²⁾, Fürntratt³⁾ und besonders von Kutscher⁴⁾ hervorgehoben wird, in dem Mangel jeder elektiven Wachstumsbegünstigung, die einmal das *Bact. coli* und die übrigen Säurebildner und ebenso die Alkalibildner zur Entwicklung kommen läßt. Letztere, die ebenfalls farblos wachsen, können zur Verwechselung mit Typhuskolonien führen, erstere infolge der Diffusion der Säure zu einer Rotfärbung des Agars nicht unerheblich weit über den Bereich der eigentlichen Kolonien hinaus Veranlassung geben und so die Erkennung von Typhuskolonien erschweren.

Wie wir bereits beim Blutagar erwähnt haben, so möchten wir auch hier nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß bei einiger Uebung die Identifizierung der klaren, taupfropfenähnlichen, rundlichen, in den peripheren Bezirken dünnen Typhuskolonie, die bei Lupenvergrößerung außerdem eine leichte Lappung des Randes erkennen läßt, selbst auf dem diffus geröteten Grunde des Endo-Agars nicht schwierig ist.

Handelt es sich um ein relativ keimarmes Material, wie es Urin vielfach zu sein pflegt, so gibt es nach unserer Erfahrung überhaupt keinen besseren Nährboden. Der positive Befund in 73 Proz. der von uns untersuchten Urinproben ist der deutlichste Beleg dafür. Für Faeces lassen sich günstige Nachweisbedingungen durch eine Serie von 2—3 Platten schaffen. Ein weiterer Vorteil des Fuchsinagars muß in der Möglichkeit erblickt werden, bei künstlicher Beleuchtung fast ebenso wie bei natürlicher mit ihm arbeiten zu können, während dies bekanntlich beim Drigalski-Agar nicht der Fall ist. Ein Nachteil liegt darin, daß im Endo-Agar bei längerem Aufheben eine Oxydierung der Leukobase und infolgedessen Rotfärbung eintritt, zumal unter der Einwirkung des Lichtes. Für Laboratorien mit großem Bedarf kommt dieser Umstand natürlich nicht in Betracht. Die Herstellung des Agars ist außerordentlich einfach, der Preis ein mittlerer (1,42 M. pro Liter).

Auch der Säurefuchsinagar ist tatsächlich, wie Kindborgs in ihrer Zusammenfassung an erster Stelle rühmend hervorheben, einfach und bequem in der Zubereitung. Dagegen übersteigen die Herstellungskosten mit 1,60 M. pro Liter die der übrigen verwandten Nährböden mit Ausnahme des Blauagars. Die Vorschrift der Autoren, deren Befolgung der praktischen Verwendbarkeit in einem stark frequentierten

1) Herberich, Inaug.-Diss. Würzburg 1904.

2) Ruata, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. p. 576.

3) Fürntratt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. p. 487.

4) Kutscher, a. a. O.

Untersuchungsamte etwas Eintrag tun würde, die Platten nach dem Guß 24 Stunden lang bei 37° zu trocknen, haben wir, wie auch Döpner¹⁾, nicht befolgt; ein Verbringen der geöffneten, umgekehrten Schalen für ½ bis 1 Stunde in den Brutschrank genügt für den angegebenen Zweck durchaus. Die Farbenreaktion beruht, wie bereits erwähnt, auf der Fähigkeit der Typhusbacillen, die im Nährboden vorhandenen Nitrate zu reduzieren. Die gebildeten Nitrite entfärben das Säurefuchsin. Der große Kreis derartiger Entfärber wird dadurch eingeengt, daß von ihnen diejenigen, welche aus dem Milchzucker Säure abspalten, durch diese letztere das ursprüngliche Rot wieder herstellen bzw. eine neue chemische Verbindung mit gleichem Farbentone bilden. Außer den Typhusbacillen und ihnen nahe verwandten und ätiologisch gleichwertigen, mit ihnen also praktisch nahezu auf eine Reihe zu stellenden Mikroorganismen (Paratyphus A, B, Dysenterie, Pseudodysenterie usw.) haben aber auch verschiedene gerade in Faeces bzw. Urin vorkommende Saprophyten, besonders *Proteus*, *Faecalis alcaligenes*, *Pyocyaneus* die biologische Eigenschaft der Nitritbildung. Diese sollen durch den Malachitgrünzusatz in der Entwicklung gehemmt werden, so daß von den Nitritbildnern nur die zuerst genannten aufgehen.

Die hemmende Wirkung versagt nun leider nicht selten. Döpner²⁾ fand, daß *Proteus vulgaris* schon weniger empfindlich ist als Staphylokokken, der *Pyocyaneus* aber mit dem Paratyphus auf gleicher Stufe steht; und letzterer gedeiht üppig auf der Säurefuchsinplatte. Trotzdem Döpner im übrigen zu einem recht günstigen Urteil gelangt, fand er doch nicht selten bei Verwendung echter Typhusdejekte entfärbende Kolonien; immerhin boten diese teils in dem klaren durchsichtigen Nährboden nicht das charakteristische Aussehen der Typhuskolonien dar, teils erwiesen sie sich serologisch und kulturell als fremdartige Keime. Bezüglich des letzten Punktes läßt sich nur sagen, daß er selbstverständlich ist, und gegenüber anderen elektiven Nährböden keinen Vorzug bedeutet. Werbitzki³⁾ fand, daß selbst beim Verimpfen von Reinkulturen der Unterschied zwischen Typhus und Coli nicht scharf ausgesprochen ist, namentlich innerhalb der ersten 18—24 Stunden. „Beim Ausstreichen von Typhusfaeces ist es außerordentlich schwer, eine Typhuskolonie unter anderen in großer Zahl auf dem Kindborgschen Nährboden wachsenden Bakterien zu unterscheiden, und der Fehler wird hier fast zur Regel.“

Von großer Bedeutung ist die Frage, ob die Typhusbacillen durch den nicht unerheblichen Gehalt des Nährbodens an Malachitgrün nicht selbst sehr stark gehemmt und dadurch eventuell dem Nachweise entzogen werden, ob sich eine bestimmte Konzentration finden läßt, die die Typhuskeime nicht oder doch nur wenig schädigt, die anderen Keime dagegen genügend hemmt. Nach unseren früheren Erörterungen zu schließen, war das kaum anzunehmen. Die Kindborgs sagen denn auch selbst: „Dies (1:3000) war nicht etwa eine Grenze, die alle anderen Keime mit Sicherheit unterdrückte, den Typhusbacillus aber unbeschädigt ließ. Eine solche wurde für das verwandte Präparat überhaupt nicht gefunden.“

1) Döpner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 552.

2) Döpner, a. a. O.

3) Werbitzki, Archiv f. Hygiene. Bd. 69. 1909. p. 71.

Grimm¹⁾, der bei seinen Nachprüfungen die verschiedensten Konzentrationen des gleichen Präparates anwandte, konnte gleichfalls jene Grenze nicht finden; er nimmt wohl mit Recht an, daß das Malachitgrün schädigend auf die biologische Fähigkeit der Typhusbacillen, die Nitritbildung, einwirkt, und so leicht den Farbumschlag hindert. Außerdem ist aber nach ihm zu befürchten, daß bei gleichzeitigem Wachstum zahlreicher Coli-Bakterien oder anderer Säurebildner infolge ihrer starken Säureproduktion eine Entfärbung der Typhuskolonien verdeckt wird. So erklärt es sich, daß er bei Verwendung künstlicher Typhusstühle, falls sie reichlich mit Typhus beschickt waren — die Kindborgs arbeiteten anscheinend nur mit solchen — einen prompten Farbumschlag erhielt, während er bei natürlichen, sicher typhuskeimhaltigen Stühlen sehr häufig ausblieb.

Diesen ungünstigen Urteilen steht aber, wie bereits erwähnt, das sehr günstige Döpnern gegenüber, der konstatieren konnte, daß in der Regel in 14—20 Stunden eine deutliche Farbenreaktion auftrat, der fand, daß die Säurefuchsinplatte der Blauplatte in hohem Grade und auch der Endo-Platte überlegen sei. Immerhin empfiehlt er, weil einzelne Typhusstämmen von Malachitgrün in höherem Grade als Coli gehemmt werden, die gleichzeitige Verwendung von Endo-Nährboden.

Um nun von unseren eigenen Versuchen zu sprechen, so haben wir zuerst orientierend mit Reinkulturen verschiedener Bakterienarten gearbeitet, um ihr Wachstum bzw. ihre Fähigkeit der Farbenreaktion zu prüfen. Paratyphus B gab, wie das alle anderen Untersucher betonen, und wie es auch besonders aus Tabelle II hervorgeht, vorzügliche Resultate. Für den Nachweis von Paratyphus scheint uns demnach — obwohl wir selbst keine Gelegenheit hatten, mit natürlichem derartigen Ausgangsmaterial zu arbeiten — der Kindborg-Agar in erster Linie geeignet.

Die Typhusstämmen verhielten sich recht verschieden. Einige wuchsen bereits innerhalb der ersten 24 Stunden relativ kräftig und ihre Fähigkeit der Nitritbildung dokumentierte sich durch eine starke Aufhellung, ganz wie es die Autoren beschreiben. Andere Stämme waren spärlich gewachsen, zeigten aber erst im Verlauf des 2. oder 3. Tages eine sich allmählich verstärkende Farbenreaktion. Der Stamm, der zur 1. Versuchsreihe verwandt wurde, ließ nach 48 Stunden Wachstum erkennen, Aufhellung trat aber sogar erst noch später auf. Bei der Typhus-Coli-Mischauflösung wurde die Farbenreaktion gänzlich vermißt. Das makroskopisch erkennbare Wachstum sistierte, wie auf der Malachitgrünplatte, bereits nach 12 Tagen, erheblich früher als auf den anderen Nährböden. Die Blutgallekulturen ließen bei 9 sicher positiven Proben Wachstum vermissen. Das Wachstum war im übrigen, wie auch die Aufhellung, recht verzögert; letztere blieb mehrmals innerhalb der angegebenen Beobachtungszeiten ganz aus.

Die Coli-Stämme wuchsen teilweise auf dem Fuchsinagar, meist wurden sie völlig gehemmt, wie z. B. in der 1. und 2. Versuchsreihe. Bemerkenswert erscheint uns noch, daß wir für Faecal.-alcalig.-Stämme mehrmals Wachstum und auch Farbenreaktion

1) Grimm, a. a. O.

bereits innerhalb der ersten 24 Stunden konstatieren konnten. Auch *Proteus*-Stämme zeigten zum Teil Wachstum, niemals jedoch Aufhellung.

Unsere Versuche mit natürlichen Typhusstühlen und Urinen ergaben, wie aus Tabelle IVa und b zu ersehen ist, ein sehr ungünstiges Resultat. Im allgemeinen war eine erhebliche Hemmung zu konstatieren; von allen verwandten Nährböden, abgesehen vom Malachitgrünagar, wuchsen auf diesem die wenigsten Kolonien. Mehrmals fanden wir Aufhellungen durch Kolonien, die sich bei weiterer Identifizierung nicht als Typhus oder Paratyphus erwiesen.

Uebrigens möchten wir noch auf einen Uebelstand hinweisen. Die Farbenreaktion beschränkt sich meist nicht auf die nächste Umgebung der betreffenden Kolonie, sondern ist fast ebenso diffus wie etwa die Rötung auf Blauagar oder Endo durch Säurebildner. Nur wird dort die Auffindung der Typhuskolonie durch ihren charakteristischen Habitus sehr erleichtert. Auf der Fuchsinplatte hat aber die Typhus- bzw. Paratyphuskolonie an und für sich kaum etwas Spezifisches, so daß ihre Unterscheidung von anderen in dem aufgehellten Bezirk gewachsenen Kolonien sehr erschwert ist.

Unsere Erfahrungen mit dem Kindborg-Agar sind auffallend ungünstig, noch ungünstiger, als die der bereits erwähnten Autoren. Wir möchten annehmen, daß dies zum Teil wenigstens auf unser Malachitgrünpräparat zurückzuführen ist, das sich ja auch beim Lentz-Tietz-schen Verfahren so wenig bewährte. Einen anderen Grund könnten wir nicht finden, da wir uns streng an die Vorschriften hielten. Offenbar entsprach die Konzentration von 1:3000 nicht dem für dieses Präparat günstigsten Titer, wobei freilich zu berücksichtigen ist, daß die Autoren selbst angeben, daß sie eine bestimmte Grenze nicht gefunden, bei der alle Typhusstämmen nicht geschädigt wurden, wohl aber die Konkurrenz-bakterien, speziell *Coli*. Es wäre nicht unmöglich, daß gerade die in den von uns untersuchten Dejekten vertretenen Typhusstämmen besonders empfindlich waren. Jedenfalls scheint es uns keine sehr glückliche Kombination zu bedeuten, dem Nährboden Malachitgrün ohne ein weiteres, für den Typhusbacillus elektives Nährpräparat oder die Wirkung jenes Farbstoffes beeinflussendes chemisches Agens hinzuzusetzen. Aus diesem Grunde modifizierte ja auch Löffler seinen ursprünglichen Nährboden durch Gallezusatz und das beste bisher Erreichte ist in dieser Hinsicht offenbar der Padlewski-Nährboden, der außer Malachitgrün neben Galle noch Natriumsulfit enthält, das wohl zweifellos die bakterizide Wirkung des Malachitgrüns schwächt.

Ueber die Leistungsfähigkeit des Conradischen Nährbodens liegen bereits mehrere Nachprüfungen vor, und das Gesamtergebnis stimmt durchaus mit unseren Erfahrungen überein, der Brillantgrün-pikrinsäureagar bedeutet eine erhebliche Bereicherung der bakteriologischen Technik. Conradis Angaben auf dem 2. Mikrobiologenkongreß haben sich im wesentlichen bestätigt.

Kypke-Burchardi¹⁾ konnte in seinen Versuchsreihen, in denen

1) Kypke-Burchardi, Hygien. Rundschau. 1908. No. 21. p. 126.

er mit Aufschwemmungen von Reinkulturen der betreffenden Bakterienarten unter Berücksichtigung speziell der quantitativen Verhältnisse arbeitete, eine erhebliche Wachstumshemmung des *Bac. coli* (2 Stämme), eine totale des *Bac. subtilis* und des *Faecalis alcalig.* beobachten, während *Proteus*, *Pyocyaneus* und *Fluorescens* ein ungehindertes Wachstum zeigten. Für Typhus und Paratyphus B bestanden günstige Entwicklungsbedingungen.

Von größerer praktischer Bedeutung sind die Mitteilungen Schumachers¹⁾, der das Endo-Malachitgrünplattenverfahren und den Conradi-Agar an dem reichen Material einer Typhusbekämpfungsstation vergleichend prüfte. Er konnte einmal feststellen, daß die günstige Wirkung des zuletzt genannten Nährbodens in bezug auf die Entwicklung der Typhusbacillen und die Hemmung einiger Konkurrenzbakterien, speziell des *Bac. coli*, nur der kombinierten Wirkung des ganz genau auf 3 Proz. einzustellenden Säuregrades, des Brillantgrüns und der Pikrinsäure zu danken sei, wobei die letztere gerade das für die Typhusbacillen wachstumsfördernde Moment darstellt. Allerdings fand er, wie auch wir, um das gleich vorweg zu nehmen, daß keineswegs alle Coli-Arten gehemmt werden. Ebenso stimmen seine Befunde insofern durchaus mit den unseren überein, als *Proteus*- und *Alcaligenes*arten sogar noch üppiger als Typhus bzw. Paratyphus gedeihen. Daraus ergibt sich eine sehr bemerkenswerte Tatsache, die praktisch von großer Bedeutung ist. Sobald im Ausgangsmaterial hauptsächlich Coli in Konkurrenz mit Typhus bzw. Paratyphus tritt, findet eine beträchtliche relative Anreicherung der letzteren statt. Herrschen aber Fäulniskeime vor, so wird die Grünplatte stark von ihnen überwuchert und dadurch der Typhusnachweis sehr erschwert bzw. vereitelt.

In ähnlich günstigem Sinne äußert sich Grimm²⁾, doch fand auch er kein durchgehends gleichsinniges Verhalten der Coli-Stämme. Ein Wachstum von *Faecalis alcalig.* vermißte er.

Für die guten Erfahrungen, die wir mit dem Nährboden gemacht, sprechen die in den Tabellen niedergelegten Befunde. Allerdings wurden die als Reinkulturen verwandten Coli-Stämme absolut nicht gehemmt; bei Verwendung von natürlichen Faeces und Urinen konnten wir uns jedoch nicht selten von der günstigen Eigenschaft des Brillantgrünagars nach dieser Richtung überzeugen. Conrads Mitteilungen über das morphologische Verhalten der Typhuskolonien können wir vollauf bestätigen. Ja, wir müssen sogar sagen, sie haben in ihrer zarten, klaren, durchsichtigen Beschaffenheit, vor allem in ihrer feinen Körnelung, die meist mit bloßem Auge zu erkennen ist (bei dem noch erheblich üppigeren Wachsen der Paratyphuskolonien ist es noch viel mehr ausgesprochen), etwas so überaus Charakteristisches, daß wir nach einiger Uebung dahin gelangt waren, auch auf reichlich bewachsenen Platten die betreffenden Kolonien nahezu mit absoluter Sicherheit herauszufinden. Erwies sich einmal eine abgestochene Kolonie nicht als Typhus, so waren wir von vornherein in unserer Annahme zweifelhaft gewesen. Die

1) Schumacher, Klin. Jahrbuch. Bd. 21. 1909. p. 209.

2) Grimm a. a. O.

fehlende Farbenreaktion wurde uns so fast vollständig ersetzt. Allerdings sind die Typhuskolonien meist nur in einem bestimmten Entwicklungsstadium so typisch, nämlich nach 18—24-stündigem Wachstum, eine Tatsache, die aber dem Nährboden nur zum Vorteil gereichen kann. Daß die Typhusbacillen in ihrer Entwicklung anfangs in geringem Grade zurückgehalten werden, wenigstens im Vergleich mit dem Wachstum auf Endo- und Padlewski-Agar, beobachteten wir, wie sich aus Tabelle III ergibt, nur wenige Male.

Schließlich mag nicht unerwähnt bleiben, daß der Conradi-Agar von allen bisher angegebenen elektiven Typhusnährböden der billigste ist, das Liter kostet etwa 96 Pfennige. Seine Zubereitung ist wegen der genauen Einstellung des Säuregrades nicht ganz einfach. Einen, wenn auch nicht wesentlichen Uebelstand müssen wir darin erblicken, daß sich auf den Platten, wenn sie 2—3 Tage bei Zimmertemperatur aufgehoben werden, zumal im Sommer, nicht selten Schimmelpilze entwickeln.

Der Nährboden von Padlewski, dieser „überaus glücklich korrigierte Löffler-Agar“, scheint auch uns in vieler Hinsicht tatsächlich einen vorläufigen Höhepunkt in der Entwicklung der Methodik des Typhusbacillennachweises zu bedeuten. Wohlverstanden, nicht in dem Sinne, als wäre er ein Idealnährboden nach Art des Peptonwassers für die Choleravibrionen. Seine Leistungen hinsichtlich der relativen Anreicherung der Typhusbacillen durch Hemmung der Konkurrenz Bakterien möchten wir nicht allzu hoch bewerten, wenngleich sie aus erklärlichen Gründen bedeutender sind, als z. B. beim Endo-Agar. Hinter denen des Brillantgrün-pikrinsäurenährbodens stehen sie sicher zurück. Immerhin ist die Wirkung des Malachitgrüns, obwohl es durch den Na_2SO_3 -Zusatz chemisch nicht unbeeinflusst bleibt, gerade bei Verwendung natürlicher Typhusdejekte vielfach unverkennbar, besonders gegenüber dem *Bacterium Coli*. Dagegen gedeihen infolge des starken Pepton- und des Gallezusatzes die Typhus- und noch mehr die Paratyphuskolonien üppig wie auf keinem der anderen Nährböden. Weiterhin gestattet der Padlewski-Agar eine gute Differenzierung zwischen der Gruppe der Säurebildner, speziell des *Bac. Coli*, und der Gruppe der Nicht-Säurebildner, zu denen die Typhaceen gehören, durch die Farbenreaktion. Allerdings fanden wir sie ebenso wie Werbitzki¹⁾ nicht regelmäßig gleichstark ausgesprochen. Bei den einzelnen *Coli*-Stämmen bestehen quantitativ und zeitlich Unterschiede im Auftreten der Grünung der Kolonien. In den meisten Fällen war sie aber doch schon sehr frühzeitig recht intensiv. Andererseits kommt es, im Gegensatz zu dem entsprechenden Verhalten auf der Blau- und besonders der Endo-Platte, nur selten vor, daß bei reichlichem *Coli*-Wachstum und dadurch bedingter diffuser Grünung des Agars die Typhuskolonien schwer zu erkennen sind. Offenbar bilden letztere aus dem reichlich vorhandenen Pepton so beträchtliche Mengen alkalischer Produkte, daß die Säure in dem betreffenden Bezirk neutralisiert bzw. überneutralisiert wird. Wir fanden jedenfalls in derartigen Fällen meist die Typhuskolonien

1) Werbitzki, Arch. f. Hyg. Bd. 69. 1909. p. 70.

als farblose Scheiben mit gleichartigem Hofe auf grünem Grunde.

Was nun die Identifizierung der Typhuskolonien gegenüber den anderen nichtvergärenden, also ebenfalls farblos wachsenden Bakterienarten anbetrifft, die auch nach Padlewskis Angabe sehr reichlich wachsen können, so hat uns, wie auch Grimm, hierbei seine Charakterisierung der Typhuskolonie fast stets einen sicheren Fingerzeig gegeben. Werbitzki's Urteil, „unter allen Merkmalen, die Typhuskolonien kennzeichnen, ist es nicht möglich, eines herauszufinden, das diesen stets zukommt und bei Kolonien anderer Bakterien nicht auftritt“, können wir nicht beipflichten, wenn wir auch nicht behaupten, Padlewskis Angaben hätten uns nie im Stich gelassen. Daß die bakterizide Wirkung des zugefügten Malachitgrüns durch den Pepton-Gallezusatz für den Typhus paralytisch wird, läßt die erste Versuchsreihe deutlich erkennen. (Allerdings wurde dieser Coli-Stamm noch weniger beeinflusst.) Auch die in der Tabelle III wiedergegebenen Befunde sprechen in diesem Sinne: Für den möglichst schnellen Nachweis der Typusbacillen in Blutgallekulturen steht der Padlewski-Agar dem Endo-Nährboden zum mindesten gleich. Bei der Prüfung an natürlichem Typhusmaterial bewährt er sich im ganzen von allen Nährböden am meisten, nur für Urin war Endo-Agar unübertroffen. Die Zubereitung des Nährbodens ist ganz einfach. Seine Herstellungskosten betragen 1,26 M. pro Liter.

Wollen wir uns nun auf Grund der erörterten Tatsachen ein Urteil darüber bilden, welches der geprüften Verfahren für den Typhusbacillennachweis am meisten geeignet sei, so dürfen wir ganz gewiß nicht die Prozentsätze der positiven Befunde allein berücksichtigen. Es würde das einen einseitigen und bis zu einem gewissen Grade sogar irrthümlichen Maßstab bedeuten. Wir haben von jedem Nährboden nur eine große bzw. die entsprechende Anzahl kleiner Platten benutzt. Bei Verwendung einer größeren Zahl der gleichen Art hätten wir möglicherweise einen positiven Ausfall bekommen, während er so negativ war, vielleicht wegen der geringen Zahl der Keime im Ausgangsmaterial.

Bei der Bewertung der Anwendbarkeit und Leistungsfähigkeit eines Nährbodens haben wir die Gesamtheit seiner Eigenschaften zu berücksichtigen.

Einmal die Einfachheit und die Billigkeit der Zubereitung. Was den ersteren Punkt anbetrifft, so verhalten sich im großen und ganzen die Verfahren gleich, nur der Blauagar und der Brillantgrünagar erfordern vielleicht etwas größere Mühe und Sorgfalt.

Die Herstellungskosten, die bereits gelegentlich erwähnt wurden, seien hier nochmals übersichtlich zusammengestellt.

1 Liter	Malachitgrünagar	1,40 M.
1 „	Drigalski-Conradiagar	2,59 „
1 „	Endoagar	1,42 „
1 „	Kindborgagar	1,60 „
1 „	Conradiagar	0,96 „
1 „	Padlewskiagar	1,26 „

Von diesem Gesichtspunkte aus würden also vor allem der Conradi-Agar sowie der Padlewskische und der Endosche Nährboden zu bevorzugen sein. Recht wesentlich ins Gewicht fällt auch die Kürze

der Frist, in der im allgemeinen die Typhuskolonien zu einer die Identifizierung gestattenden Größe herangewachsen sind. Für Padlewski und Endo genügen meist 14—16—18 Stunden, für Conradi und Drigalski bedarf es hin und wieder eines etwas längeren Wachstums. Recht ungünstig verhält sich in dieser Beziehung nach unserer Erfahrung der Kindborg-Agar. Das Lentz-Tietzsche Verfahren beansprucht von vornherein 2×24 Stunden.

Die Einfachheit der Identifizierung der Typhuskolonien wird hauptsächlich bedingt durch die Farbenreaktion und die Morphologie der Kolonien. Nach dieser Richtung scheinen der Blauagar und der Endo-Agar, der Padlewskische und Conradische Nährboden im großen und ganzen, wenn alles gegeneinander abgewogen wird, nahezu die gleichen Bedingungen zu bieten; doch liegen für den geübten Untersucher die Bedingungen am günstigsten bei Verwendung der beiden zuletzt aufgeführten Nährbodenarten.

Auf dem Kindborg-Agar ist, wie oben ausführlich erörtert, der Nachweis nicht selten recht erschwert.

Zu berücksichtigen wäre dann weiterhin das Verhalten der Typhusbacillen im hängenden Tropfen bzw. beim vorläufigen Agglutinationsversuch, je nach dem Nährboden, von dem sie stammen. Bekanntlich ist schlechte Beweglichkeit und verzögerte Agglutination bei frisch aus dem Körper gezüchteten Stämmen beobachtet worden, besonders bei Verwendung malachitgrünhaltiger Nährböden. Wir haben hin und wieder ein derartiges Verhalten konstatieren können, doch bestand keine Konstanz der Erscheinung. Als ein wesentlich in Betracht kommendes Moment vermag es uns nicht zu erscheinen.

Von ganz besonderer Bedeutung ist nun endlich die Art des Untersuchungsmaterials für die Leistungsfähigkeit der betreffenden Nährböden. Es kann in der Urin- oder Stuhlprobe eine Reinkultur von Typhusbacillen oder doch nahezu eine solche vorhanden sein; die Fäulniskeime können überwiegen oder die Säurebildner, die Typhusbacillen können noch gut entwicklungsfähig oder bereits in ihrer Vitalität geschwächt sein.

Ist letzteres der Fall, so eignet sich hauptsächlich der Endo- und Padlewski-Agar, ist es ein bereits faulendes Ausgangsmaterial, so dürften der Malachitgrün- und der Kindborg-Agar, bei Anwesenheit reichlicher Säurebildner neben diesen beiden vor allem der Conradi-Agar in Betracht kommen. Der Drigalski-Conradi-Nährboden nimmt in allem, abgesehen von dem zuerst erwähnten Punkte der geschwächten Vitalität eventuell vorhandener Typhuskeime, eine Mittelstellung ein.

Aus diesen Tatsachen folgert sich das eine mit zwingender Notwendigkeit: einen für jeden Stuhl, jeden Urin günstigen elektiven Nährboden besitzen wir nicht. So ergibt sich denn die Forderung, die auch von anderen Untersuchern bereits befolgt ist, beim Typhusbacillennachweis mehrere Nährbodenarten nebeneinander zu verwenden, eventuell unter Benutzung des einen oder anderen zur „Vorkultur“.

Uns erscheint folgende Kombination zur Erzielung günstiger Ergebnisse als besonders geeignet:

- 1) Padlewski-Agar;
- 2) Endo-Agar;
- 3) Conradi-Agar, eventuell mit Abschwemmung auf Endo;
- 4) Malachitgrünagar mit Abschwemmung auf Endo.

Von dem Untersuchungsmaterial werden je nach seinem Alter etc. 2—3 große Oesen auf einer Conradi-Platte ausgestrichen und mit demselben Spatel die Padlewski-Platte beimpft. Ebenfalls 2—3 Oesen kommen auf die Malachitgrünplatte; auch hier wird dann der Spatel noch auf einer Endo-Platte abgestrichen. Nach 18—20stündigem Verweilen im Brutschrank werden die Platten durchmustert. Finden sich keine verdächtigen Kolonien, so sind die Conradi- und die Malachitgrünplatten in der üblichen Weise auf Endo-Agar abzuschwemmen, und nach weiteren 18—20 Stunden sämtliche Platten nochmals zu betrachten.

Wenn wir uns auch dem Einwande nicht verschließen, daß die Anfertigung und das Vorrätighalten von 4 verschiedenen Nährbodensorten etwas umständlich sein wird, — die Untersuchung selbst ist dann mit allen nur wünschenswerten Kautelen umgeben. Und bei der Bedeutung, die dem Nachweis von Typhusbacillen vor allem in sanitätspolizeilicher Hinsicht zukommt, dürfte es sich der Mühe schon lohnen.

Die Kosten für verwandten Nährboden erhöhen sich durch das kombinierte Verfahren nur wenig. Stellen wir es z. B. dem Lentz-Tietz'schen Verfahren gegenüber, so ergeben sich folgende Unterschiede:

1 Platte Malachitgrünagar	5,6 Pfg.	1 Platte Endoagar	5,6 Pfg.
1 „ Drigalski-Conradiagar	10,0 „	1 „ Conradiagar	3,8 „
		1 „ Malachitgrünagar	5,6 „
		1 „ Padlewskiagar	5,0 „
Summa	15,6 Pfg.	Summa	20,0 Pfg.
Falls Abschwemmung erforderlich:			
1 Platte Drigalski-Conradiagar	10,0 Pfg.	2 Platten Endoagar	11,2 Pfg.
Summa	25,6 Pfg.	Summa	31,2 Pfg.

Erscheint es angebracht, entsprechend den Vorschriften von Lentz und Tietz für den Originalausstrich und ebenso für die Abschwemmung 2 Blauplatten zu verwenden, und würde man in dem von uns vorgeschlagenen kombinierten Verfahren analog 2 Endo- und 2 Padlewski-Platten neben der Conradi- und Malachitgrünplatte für die Beimpfung mit dem Ausgangsmaterial, 2 Endo-Plattenpaare außerdem für die Abschwemmung benutzen, so erhöhten sich die Kosten von 25,6 Pfg. auf 45,6 Pfg. bzw. von 31,2 Pfg. auf 52,4 Pfg.

Nachdruck verboten.

Erfahrungen mit dem neuen Malachitgrün-Agar Padlewskis zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe.

[Aus der K. bakteriologischen Untersuchungsstation Landau, Pfalz.]

Von Stabsarzt Dr. Megele, Leiter der Station.

Die Tatsache von dem immer wieder neuen Auftauchen von Nährböden zum Nachweis von Typhusbacillen bzw. deren Unterscheidung von anderen Bakterien, voran dem *Bacterium coli*, beweist, daß der Idealnährboden noch nicht gefunden ist. Ohne Zweifel leisten die sämtlichen vorhandenen Nährsubstrate in ihrer Art Gutes und würden sicher den an sie gestellten Anforderungen vollkommen genügen, wenn uns ein wirklich erfolgreiches Anreicherungsverfahren zu Gebote stünde.

Zur Feststellung von Typhus- und Paratyphusbacillen kamen in unserer Anstalt bisher hauptsächlich zur Verwendung: Lackmusnutroseagar nach v. Drigalski und Conradi, Conrads Brillantgrünagar und Löfflers Malachitgrünagar. Seit einigen Monaten machen wir nun auch Versuche mit dem von Padlewski angegebenen Malachitgrünagar. Das Ziel, Coli- und andere Bakterienarten in ihrem Wachstum zu hemmen, Typhus- und Paratyphusbacillen aber zu fördern, sucht der Autor durch folgende Zusammensetzung seines Nährbodens zu erreichen. (Die ausführliche Beschreibung findet sich im Centralblatt für Bakteriologie. Bd. 48. Abt. I. Orig. Heft 4.)

Hier sei nur das Wesentlichste kurz zusammengefaßt:

Zu 3 Proz. Fleischagar mit 2 Proz. Pepton und von schwach alkalischer Reaktion kommen 1 Proz. chemisch reiner Milchzucker und 3 Proz. nicht sterilisierte Ochsen-galle. Nach dem Abfüllen in Kölbchen zu je 100 ccm wird der Agar 3 Tage lang je $\frac{1}{2}$ Stunde in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Vor dem Gebrauch gibt man zu je 100 ccm Agar:

1) 0,5 ccm einer 1-proz. wässerigen Lösung von kristallinischem, chemisch reinem Malachitgrün.

2) 0,75—1,0 ccm einer 10-proz. wässerigen Lösung von schwefligsaurem Natrium (Na_2SO_3).

3) 0,5 ccm Ochsen-galle.

Die Mischung wird in nicht zu dünner Schicht in Schalen ausgegossen, und soll nach dem Erstarren von gelblicher Farbe, ohne grünen Ton sein.

Die Kolonien der Colibakterien entwickeln sich grün, die der Typhusbacillengruppe erst farblos, dann goldgelb und durchscheinend. Die Farbenreaktion entsteht dadurch, daß die Milchzucker zersetzenden Bakterien Säure bilden. Diese oxydiert das durch das schwefligsaure Natrium reduzierte und entfärbte Malachitgrün und stellt die ursprünglich grüne Farbe des Nährbodens wieder her. Die Beigabe von Galle soll das Wachstum der Typhusbacillen fördern.

Nach den Angaben Padlewskis bietet der Nährboden folgende Vorzüge:

- 1) Günstige Bedingungen für ein schnelles und üppiges Wachstum der Bacillen der Typhusgruppe.
- 2) Antiseptische Wirkung auf viele andere Bakterien des Kotes.
- 3) Dank der Farbenreaktion scharf hervortretender Unterschied zwischen den Kolonien der Typhus- und Coligruppe.
- 4) Leichte Diagnose und Isolierung von Typhusbacillen in den Fällen, wo ihre Kolonien unmittelbar an die des Bact. coli anstoßen, infolge Fehlens jeglicher diffuser Färbung.
- 5) Die Möglichkeit, die Aussaat mit einer ziemlich großen Menge Kot vorzunehmen.
- 6) Leichte Bereitung des Nährbodens aus billigen Stoffen.

Auf der Station wurden 400 Stuhl- und Harnuntersuchungen vorgenommen, bei denen zum Vergleiche Drigalski-Conradi- und Malachitgrünagar Loeffler mit dem gleichen Material beschickt wurden. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle niedergelegt. Sie enthält jedoch nur die Fälle, in denen durch einen der Nährböden ein positives Resultat erzielt wurde. Hinsichtlich der Zubereitung des neuen Nährbodens möchte ich hier anführen, daß wir zur Herstellung des Fleischwassers sowohl Rindfleisch wie Pferdefleisch, als auch 1-proz. Lösung von Liebig'schem Extrakt benutzten, ohne eine Beeinträchtigung des Wachstums der Bakterien zu beobachten.

Tabelle.

Lfd. No. des Untersuchungs-materials	Drigalski	Padlewski	Malachit
1	spärlich	reichlich	—
3	—	überaus reichlich	—
4	reichlich	sehr reichlich	spärlich
5	sehr reichlich	" "	—
10	reichlich	" "	spärlich
15	—	Paraty. reichlich	—
16	Paraty. spärlich	Paraty. sehr reichlich	—
21	reichlich	spärlich	reichlich
24	—	"	—
41	sehr reichlich	reichlich	reichlich
46	spärlich	"	—
47	reichlich	sehr reichlich	spärlich
48	—	reichlich	—
49	spärlich	sehr reichlich	spärlich
142	—	reichlich	—
148	spärlich	sehr reichlich	reichlich
152	"	—	spärlich
188	—	—	"
203	spärlich	—	—
220	sehr reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich
226	—	" "	"
231	—	—	reichlich
232	spärlich	—	—
233	—	—	reichlich
248	—	reichlich	—
249	reichlich	spärlich	—
270	sehr reichlich	reichlich	sehr reichlich
292	" "	"	reichlich
316	—	spärlich	spärlich
331	reichlich	—	—

Lfd. No. des Untersuchungs- materials	Drigalski	Padlewski	Malachit
354	spärlich	—	—
359	„	—	—
361	reichlich	reichlich	—
362	„	„	—
367	spärlich	spärlich	—
370	—	reichlich	—
375	spärlich	spärlich	—
378	„	„	—
398	„	—	—

Es hatten sich demnach mit Hilfe der angeführten Nährböden in 39 Fällen Typhus- bzw. Paratyphusbacillen nachweisen lassen = 9,7 Proz.; davon trafen positive Resultate auf:

Drigalski 28mal = 7 Proz. der Gesamtfälle
 Padlewski 29 „ = 7,25 „ „ „
 Malachitgrün 16 „ = 4 „ „ „

Die Diagnose Typhusbacillen konnte bei 39 positiven Stühlen nur gestellt werden mit Hilfe von:

Drigalski 6mal = 15,3 Proz.
 Padlewski 5 „ = 12,8 „
 Malachitgrün 3 „ = 7,6 „

Die Entwicklung der Typhusbacillenkolonien war:

	spärlich	reichlich	sehr reichlich
auf Drigalski	15mal	8mal	5mal
„ Padlewski	7 „	12 „	10 „
„ Malachitgrün	7 „	6 „	3 „

Bei sicher positiven Stühlen (29 Fälle) ergaben ein positives Resultat:

Drigalski 25mal = 86 Proz.
 Padlewski 23 „ = 79 „
 Malachitgrün 11 „ = 38 „

Ein negatives:

Drigalski 6mal = 20,6 Proz.
 Padlewski 7 „ = 24 „
 Malachitgrün 17 „ = 58 „

Vor dem Bekanntwerden des Padlewskischen Nährbodens verarbeiteten wir Material von bekannten Bacillenbeherbergern gleichzeitig auf Conradis Brillantgrün, Drigalski und Malachitgrünagar Loeffler. Ich führe dies hier an, um die Resultate mit den Erfolgen mit „Padlewski“ vergleichen zu können.

In Prozenten berechnet ergaben sich folgende Zahlen:

Positiv auf Drigalski: 70 Proz.
 „ „ Brillantgrün: 66,6 „
 „ „ Malachitgrün: 33,3 „
 Padlewski: 79 „

Auf Grund der gemachten Erfahrungen kann folgendes mitgeteilt werden:

Im Gegensatz zu Drigalski-Conradi-Nährböden können Säure- und Alkalibildner ohne weiteres durch den bloßen Anblick der Kolonien

— nicht deren Umgebung — unterschieden werden. Die ersteren zeigen auf dem durchsichtigen und leicht gelblichen Agar ausgesprochen grüne, letztere gelbe Farbe. Diese diffundiert nicht in die Umgebung, so daß die Kolonien als solche die Farbe geben. Es können daher zwei aneinanderstoßende leicht voneinander differenziert werden. Die Typhus- und Paratyphusbacillen erscheinen als zarte, leicht gelblich getrübbte Gebilde mit leichter Furchung und Kerbung am Rande, während Coli-Bacillen sich als undurchsichtige, kräftigere Häufchen ohne Furchenbildung mit ausgesprochen grüner Farbe zeigen. Es ist dadurch nicht nur dem Anfänger das Auffinden der Typhuskolonien wesentlich erleichtert, sondern es wird auch dem Erfahrenen, der täglich eine große Anzahl von Platten zu durchsuchen hat, viel Zeit und Arbeit erspart. Infolge der bakterienfeindlichen Wirkung des Malachitgrüns war fast immer ein bedeutendes Zurückdrängen der übrigen Bakterien und Kokken des Darmes zu bemerken, was ich hier eigens betonen möchte. Aus diesem Grunde gelang es meist schon mit der Aussaat einer Oese Stuhlaufschwemmung auf eine Platte positive Resultate zu erzielen.

Die guten Erfahrungen mit dem Nährboden, über welche auch J. Grimm in der Hyg. Rundschau. 1909. No. 14 und Werbitzki, Arch. f. Hyg. Bd. 69. 1909 berichteten, haben uns veranlaßt, ihn bei unseren Untersuchungen ständig zu benützen. Außer ihm verwenden wir noch den Lackmusnutroseagar von Drigalski-Conradi.

Ein weiterer Vorteil des Nährbodens besteht in seiner einfachen Herstellungsweise und seinen geringen Beschaffungskosten, wenn man sich bei Herstellung des Fleischwassers einer 1-proz. Lösung von Extract. carnis Liebig bedient, was nach unserem bisherigen Erproben auf das Wachstum der Typhusbacillen keinen nachteiligen Einfluß ausübt, ebenso wenig wie die Verwendung von Pferdefleisch. Die Benützung von Ochsenfleisch verteuert den Nährboden, so daß sich zur Bereitung desselben wohl nur Pferdefleisch oder Liebig'scher Fleischextrakt empfiehlt. Die fertigen Agarplatten können auch einige Tage vor Gebrauch im Brutschrank aufbewahrt werden, wodurch zwar der Agar eine grünliche Farbe annimmt, das Wachstum der Bakterien aber keinen Schaden nimmt. Die schwach grünlich gefärbten Typhus- und Paratyphuskolonien unterscheiden sich immerhin noch deutlich von den tief grün gefärbten der Coli-Bacillen.

Nachdruck verboten.

Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens.

[Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimer Obermedizinalrat Prof. P. Ehrlich).]

Von Dr. med. H. A. Gins,
Assistent des städtischen hygienischen Instituts zu Frankfurt a. M.

Mit 4 Tafeln.

Burris Monographie „Das Tuscheverfahren“ war die Veranlassung für die folgende Arbeit.

Maßgebend für unsere ersten Versuche waren Technik und Erfahrungen, wie sie Burri in der erwähnten Monographie niedergelegt hat. Bereits nach kurzer Zeit gelang es, kleinste Tuschetropfen zu erzielen, wie sie Burri als Vorbedingung für die Einzellenkultur angegeben hat, und es unterliegt keinem Zweifel, daß es auf die von ihm angegebene Art möglich ist, Reinkulturen zu erzielen, die sicher aus einem isolierten Keim hervorgegangen sind. Immerhin bedarf es zur Erreichung dieses Zieles einiger Geschicklichkeit und großer Geduld. Denn es wird zumal im Anfang nicht leicht gelingen, einen einzigen Keim in dem Tuschetropfen zu erhalten, und es liegt auf der Hand, daß der einzige Keim in dem Tropfen abgestorben sein kann, so daß es nötig ist, immer mehrere vereinzelte Keime zu verimpfen, um Mißerfolge auszuschließen.

Ausgehend von Versuchen, die sich streng an Burris Vorschrift hielten, sahen wir bald in dem Tuscheverfahren ein willkommenes Mittel zur Bereicherung der mikroskopischen Technik. Wie sehr das Verfahren geeignet ist, bei der Darstellung der *Spirochaete pallida* gute Dienste zuleisten, haben Hecht und Wilenko (Wiener klinische Wochenschrift. 1909. No. 26) mitgeteilt, die sich bei ihren Versuchen einer etwas vereinfachten Technik bedienten. Sie vermischten eine Oese des zu untersuchenden Materials mit einem Tuschetropfen und verstrichen diesen Tropfen rasch, bis er eine bräunliche Farbe annimmt. Er trocknet sehr bald ein, worauf das Präparat ohne weiteres mittels Immersionssystem zu betrachten ist. Mit Recht nennen Hecht und Wilenko das Tuscheverfahren die Methode des praktischen Arztes, denn mit keiner anderen Methode lassen sich prägnante Bilder so schnell erzielen, wie mit der Tusche.

Bereits Burri spricht davon, daß es für viele Fälle zweckmäßig sei, noch dünnere Tuscheschichten zu erreichen, als es der Punkt auf der Gelatineplatte und wohl auch der verstrichene Tuschetropfen auf dem Objektträger erlaubt, und gibt verschiedene Wege an, wie dies Ziel zu erreichen sein könnte.

In Erinnerung des Wrightschen Ausstreichers für seine Phagocytopreparate habe ich einen halben Objektträger in ähnlicher Weise vorbereitet und erreichte damit mit Leichtigkeit gleichmäßige dünnste Tuscheschichten, doch immer noch dick genug, soviel Licht zu absorbieren, daß die in der Tusche eingeschlossenen Teilchen sich durch ihre helle

Beleuchtung genügend scharf vom Untergrund abheben. Der Ausstreicher wird folgendermaßen hergestellt.

An einem halben Objektträger wird eine Kante an der Schmalseite mit einer feinen runden Feile oder am feinen Schleifstein derart abgeschliffen, daß an Stelle der Kante eine Fläche entsteht, die ungefähr um 45° zur Horizontalen geneigt ist. Die beiden Ecken der beschliffenen Kante bleiben unberührt. Mit dem so vorbereiteten Ausstreicher streiche ich den Tuschetropfen, der, auf den Objektträger aufgetragen, das zu untersuchende Material enthält, in gleichmäßigem Zuge aus, wie es zur Herstellung von Blutpräparaten üblich ist. Die Dicke der Tuscheschicht läßt sich verändern, je nach dem Winkel, den der Ausstreicher mit dem Objektträger bildet. Ist dieser Winkel 45° , so wird die Tuscheschicht am dicksten, weil dann die abgeschliffene Fläche zu dem Objektträger parallel steht. Es ist einleuchtend, daß jede Veränderung dieser Stellung der Ausstrichfläche zu dem Objektträger den zwischen beiden vorhandenen Raum verengern muß.

Mit Hilfe eines solchen Ausstreichers lassen sich nach kurzer Uebung gleichmäßige und sehr dünne Ausstriche herstellen und nur solche ermöglichen es, feinste Details, die mit Färbemethoden nur umständlich darzustellen sind, auf die angegebene einfache Art im Tuschepräparat mit überraschender Deutlichkeit zu beobachten.

Hier kurz einiges über die Tusche, von deren Beschaffenheit es abhängt, wie die Präparate ausfallen.

Zuerst wandte ich von Grübler bezogene Tusche an. Die Verdünnung 1:10 ist für die Ausstreichpräparate zu dünn. Unverdünnte Tusche hingegen verdeckt zu viel. Die günstigsten Verhältnisse fand ich bisher bei Tuschen, die aufs Doppelte verdünnt sind. Die im Handel überall vorrätige Tusche von Günther Wagner leistet für die hier angegebenen Zwecke das gleiche wie die Grüblersche, mit Ausnahme der Blutpräparate.

Für sehr wichtig halte ich den Sedimentierungsprozeß, den Burri empfiehlt. In der Tat gibt Tusche, die 14 Tage zum Sedimentieren stand, eine so feine und homogene Schicht, daß sich selbst Spirillen-geißeln deutlich abheben. Demgegenüber zeigt die nicht sedimentierte Tusche bei starker Vergrößerung zahlreiche Verunreinigungen, Staubpartikelchen und Bakterien, die, wie Burri fand, durch Zentrifugieren nicht zu entfernen sind.

Sehr störend können die in der Tusche vorhandenen Bakterien sein, zumal dann, wenn sie sich, wie ich dies an heißen Tagen beobachten konnte, in der Tusche vermehren. Eine gründliche Sterilisierung im strömenden Dampf und einige Zeit Ruhe zur Sedimentierung lassen diese Störung ausschalten. Eine neue Vermehrung der Bakterien durch Verunreinigung läßt sich durch einen geringen Zusatz von Formaldehyd verhindern. Dieser Zusatz beeinträchtigt die Bilder von Bakterien und Spirillen in keiner Weise, es scheint mir sogar, als ob er auf die Schärfe der Konturen von günstigem Einfluß wäre.

Blutpräparate dagegen dürfen nur mit formolfreier Tusche hergestellt werden, denn die roten Blutkörperchen werden durch das Formol in ihrer Gestalt stark geschädigt.

Nach diesen technischen Bemerkungen bringe ich einen Bericht über die Resultate der Untersuchungen, die ich auf Veranlassung von Herrn

Professor M. Neisser an verschiedenen mir im Institut zugänglichen Untersuchungsmaterialien anstellte.

In erster Linie waren es die Spirillen, die wir im Tuscheprunkt und dann, weniger zeitraubend, im Tuscheausstrichpräparat darstellten. Die *Spirochaete pallida* ist im Tuschepräparat mit überraschender Klarheit zu sehen; es scheint dies Verfahren die teilweise schwierigen und zeitraubenderen Färbungen ersetzen zu können. An dünnen Ausstrichen konnten wir an beiden Enden der *Spirochaete pallida* Gebilde sehen, die wir als Geißeln ansprechen.

Ebenso leicht und deutlich darzustellen sind sämtliche anderen Spirillen, die ja meist größer sind als die *Pallida*. Es dürfte daher das Tuscheverfahren als diagnostisches Hilfsmittel Bedeutung erlangen, nicht nur bei Lues, sondern bei allen Spirillenerkrankungen, z. B. *Febris recurrens*.

Besonders wertvoll erscheint mir das Tuschepräparat für die Diagnose der Angina Vincenti. Zwar ist es fast in jedem Falle möglich, nach dem Fuchsinpräparat ein Urteil abzugeben, jedoch eine solche Klarheit und Prägnanz der Form von Spirillen und fusiformen Bacillen, wie sie das Tuschepräparat zeigt, ist im gefärbten Ausstrich niemals zu erreichen. Zumal wenn nicht zu wenig Material zum Ausstrich verwandt wurde (ich verreihe ein Stück Belag direkt in dem Tuschetropfen), erhält man wunderschöne Bilder, die über die Diagnose keinen Zweifel lassen.

Eine andere Spirille, die wir im Tuschepräparat studierten, ist die Mäusespirille. Diese Spirille findet sich häufig im Blut von Krebsmäusen, ohne jedoch irgendwelche ätiologische Bedeutung zu haben. Sie ist eine der kleinsten Spirillen, wird kaum länger als der Durchmesser eines roten Blutkörperchens beträgt, hat 3—4 flache Windungen, ist aber ziemlich breit. Im Dunkelfeld zeigt sie lebhafte Beweglichkeit, was ja auf das Vorhandensein von Geißeln hindeutet, wie sie von verschiedenen Autoren vermutet wurden. Bisher gelang die Sichtbarmachung dieser Geißeln meines Wissens nicht. Im Tuscheausstrichpräparat gelingt es leicht an diesen Spirillen amphitriche Geißeln wahrzunehmen. Manchmal sieht man an einem Ende der Spirille eine sehr deutliche Geißel, manchmal sind es zwei. Es ist möglich, daß es sich dabei um einen Geißelzopf handelt, der eine einzige Geißel vortäuscht.

Bei *Spirochaete pallida* sowohl als auch bei *Recurrentspirillen* fanden sich fast regelmäßig knopfartige Verdickungen des Leibes, entweder in der Mitte oder nach dem Ende zu angeordnet. Welche Bedeutung diesen Gebilden zukommt, wissen wir nicht.

Wo es sich darum handelt, beim experimentellen Arbeiten das Auftreten von Trypanosomen im Blut zu beobachten, läßt sich das Tuscheverfahren erfolgreich anwenden.

Naturgemäß kann keine Struktur dargestellt werden, jedoch ergibt sich ein sehr deutliches Bild der äußeren Form, und zumal der Geißeln.

Bakterien sind, wie die Abbildungen bei Burri beweisen, sehr deutlich darzustellen; das Tuschepräparat ist ein wesentliches und bequemes Hilfsmittel zum Studium von Bakterienformen. Einige charakteristische Formen, z. B. die Keulenformen des *Diphtheriebacillus*, *Tuberkelbacillen* erscheinen ganz außerordentlich deutlich. Uns hat die Tusche schon mehrfach gute Dienste geleistet, wo es sich darum handelte,

festzustellen, ob Doppelkokken oder kurze Stäbchen in dem gefärbten Präparate vorhanden waren. Zumal für die Gruppe der *Pasteurella* dürfte das Tuscheverfahren in dieser Hinsicht wichtig sein. Auffallend ist die Tatsache, daß im Tuschepräparat keine Andeutung von Kapseln zu sehen ist, während vielleicht ein Grampräparat derselben Kultur deutliche Kapselbildung zeigt.

Unsere Versuche, Bakteriengeißeln mit dem Tuscheverfahren darzustellen, ergaben bisher unbefriedigende Resultate. Wohl konnten wir an *Typhusbacillen*, am *Bacillus Proteus* einzelne Geißeln sehen, meistens jedoch waren nur wenige Geißelstümpfe an dem Bakterienleib festzustellen. Ein Hilfsmittel, die Begeißelung der Bakterien auf eine einfache Art darzustellen, haben wir an dem Tuscheverfahren vorläufig nicht. Für diesen Mißerfolg können wir verschiedene Gründe angeben. Das Agarkondenswasser, ein sehr geeignetes Medium zur Geißelentwicklung, schädigt bereits in sehr geringer Menge die Homogenität der Tuscheschicht, macht das Präparat flockig und zerstört dadurch schon die Aussicht, sehr feine Einzelheiten zu erkennen. Die Geißeln dagegen reißen anscheinend während des Eintrocknungsprozesses von dem Bakterienkörper ab und werden so natürlich unsichtbar. Vielleicht aber haben wir uns die Unsichtbarkeit der Bakteriengeißeln so vorzustellen, daß diese feinsten Gebilde auf der Tuscheschicht, die ja nicht so dick ist, wie die Bakterien, schwimmen, also die Tuscheschicht unter sich haben. Die einzelnen Geißeln, die wir sehen konnten, wären dann vielleicht mehrere zu einem Zopf zusammengedrehte Geißeln.

Schon die ersten Versuche, Trypanosomen und Spirillen des strömenden Blutes mit dem Tuscheverfahren darzustellen, zeigten uns erstaunlich scharfe Blutbilder. Sehr bald fiel es auf, daß die Stechapfelform der roten Blutkörperchen plastisch hervortrat, woraus hervorgeht, daß bei der Entwicklung dieser Form die Blutzelle zwar an Umfang abnimmt, aber an Höhe zunimmt. Die Leukocyten unterscheiden sich von den Erythrocyten im Tuscheausstrichpräparat dadurch, daß sie größer sind als diese und eine vollständig weiße Scheibe darstellen, während die Erythrocyten auch im Tuschepräparat ihre Tellerform dadurch zum Ausdruck bringen, daß sie in ihrer Konkavität meist etwas Tusche erhalten. Die Leukocyten erschienen nicht immer kreisrund, an einzelnen ließen sich deutliche amöboide Fortsätze feststellen. Andere Leukocyten dagegen zeichneten sich durch einen Kranz feinsten Fortsätze aus, die sich strahlig nach allen Seiten verbreiteten. Ihre maximale Länge war gleich dem Durchmesser des betreffenden Leukocyten. Welcher Art von Leukocyten diese Fortsätze zukommen, konnten wir bei unseren orientierenden allgemeinen Untersuchungen nicht feststellen. In allen Blutpräparaten, die mit Tusche angefertigt waren, fanden sich zahlreiche Gebilde, deren Deutung nicht sofort gelang.

Diese Gebilde stellten sich dar als helle Flecke, bedeutend kleiner als die roten Blutzellen, denen eine Anzahl langer feinsten Fortsätze ein ganz eigenartiges Aussehen gab. Die Regelmäßigkeit, mit der diese Gebilde in allen Präparaten, im Menschenblut, im Mausblut und im Meerschweinchenblut vorhanden waren, dann ihre Neigung, sich zu Klumpen zusammenzuballen, gab die Erklärung, daß es sich um Blutplättchen handelte. Im Taubenblut dagegen fand sich nichts, das als Blutplättchen hätte angesprochen werden können. Die meisten Blutplättchen zeigen

bis zu acht sehr lange feinste Fortsätze, oft bis 3- oder 4mal so lang, als der Durchmesser des Blutplättchens. Diese Fortsätze sind teilweise regelmäßig, strahlenförmig um das Blutplättchen angeordnet, teilweise legen sie sich gekrümmt dem Blutplättchen an und verleihen diesem ein Aussehen, das an einen Taschenkrebs oder an eine Spinne erinnert. Verbindungen dieser Fortsätze untereinander konnten wir niemals beobachten.

Wir dürfen als weiteren Vorzug des Tuscheverfahrens angeben, daß es trotz seiner Einfachheit gestattet, die Blutplättchen mit solcher Deutlichkeit darzustellen.

Da sich mit der Ausstrichmethode gleichmäßige Blutpräparate herstellen ließen, lag es nahe, einige orientierende Zählungen der Blutplättchen anzustellen. Dabei stellte sich heraus, daß die Zahl der Blutplättchen augenscheinlich größer ist, als bisher angegeben wurde. Fast alle Autoren geben die Zahl 200 000—300 000 pro 1 cbmm Blut an. Ich bekam bei meinen Zählungen, denen das Verhältnis von Erythrocyten zu Blutplättchen zugrunde lag, immer höhere Werte, zwischen 300 000 und 1 000 000.

Die Inkonstanz meiner Zählresultate erklärt sich erstens dadurch, daß ich infolge von Zeitmangel nie mehr als 1000 Erythrocyten auszählte, zweitens aber durch die Eigentümlichkeit der Blutplättchen welche sich oft zu Haufen verklumpt vorfinden. So findet man häufig in einer Anzahl von Gesichtsfeldern gar keine Blutplättchen, dagegen in einem anderen Gesichtsfeld einen Haufen von 20 oder mehr, während die Erythrocyten gleichmäßig verteilt sind.

Die eben erwähnte Gleichmäßigkeit der Tuscheausstrichpräparate läßt eine weitere praktische Verwendung zu, und zwar zum Auszählen von Vaccin zur bakteriotherapeutischen Inokulation nach Wright. Die Färbung bietet oft Schwierigkeiten dadurch, daß sich entweder die Blutzellen oder die Bakterien schlecht färben oder Farbniederschläge das Bild beeinträchtigen. Bei dem Tuschepräparat wird man niemals im Zweifel sein können, denn sowohl Blutzellen als auch Bakterien geben absolut charakteristische Bilder, vorausgesetzt natürlich, daß die Tusche gut vorbereitet und frei von Verunreinigung ist.

Einige Zählungen, die wir teils im gefärbten, teils im Tuschepräparat anstellten, ergaben innerhalb der Fehlergrenze übereinstimmende Resultate, so daß wir das so sehr einfache Tuscheausstrichverfahren zum Vaccinzählen empfehlen können.

Zum Schluß einige Worte über die Verwendbarkeit des Tuscheverfahrens zur Herstellung von Demonstrations- und Projektionspräparaten. Dadurch, daß Bakterien, Blutzellen usw. im Tuschepräparat leuchtend hell auf dunklem Grund erscheinen, macht das Präparat den Eindruck eines photographischen Negativs. Die Photographie eines Tuschepräparates ergibt somit ohne weiteres ein Diapositiv.

Die Herstellung von Projektionspräparaten wird also bei der Anwendung der Tuschemethode wesentlich abgekürzt.

Es empfiehlt sich daher das Burrische Tuscheverfahren:

1) für manche mikrobioskopische Zwecke (besonders *Spirochaete pallida*, *Angina vincenti*, *Recurrentis*, Geißeln der Mäusespirille und anderer Spirillen, Bakterienformen).

- 2) zum Studium und zur Zählung der Blutplättchen und zum Studium der übrigen Morphologie des Blutes;
- 3) zur Zählung der Bakterienaufschwemmungen nach Wright;
- 4) zur Herstellung von Projektionspräparaten.

Nachtrag bei der Korrektur:

Während der Drucklegung ist es mir gelungen, Tuscheausstrichpräparate mit beliebigen Färbeverfahren nachzufärben. Die gut luftgetrocknenen Präparate werden genau so fixiert und gefärbt wie gewöhnliche Ausstrichpräparate. Nach dem Abspülen, das sehr vorsichtig geschehen muß, dürfen die Präparate nicht zwischen Filtrierpapier getrocknet werden, sondern müssen aufrecht an der Luft oder im Thermostaten zum Trocknen bleiben, damit die sehr feine Tuscheschicht nicht zerstört wird. In Blutpräparaten, die ich mit Giemsa-Lösung 20 Minuten nachfärbte, ließ sich in den Blutplättchen der chromatinhaltige Innenkörper sehr intensiv darstellen und lieferte so den Beweis, daß wir es tatsächlich mit Blutplättchen zu tun haben. Zur Darstellung dieser Blutbestandteile empfehle ich daher die Nachfärbung der Präparate mit Giemsa-Lösung ganz besonders.

Auch bereits gefärbte dünne Ausstrichpräparate lassen sich nachträglich noch mit Tusche überziehen, welches Verfahren unter Umständen vorteilhaft sein kann.

Meine Angabe über die Vorbereitung der Tusche durch Sedimentierung muß ich auf Grund eines neuen Versuches dahin abändern, daß es doch möglich ist, die Verunreinigungen der Tusche durch Zentrifugieren fast vollständig zu entfernen. Nach längerem Zentrifugieren bei 3—5000 Umdrehungen erhält man ein dickes Sediment, bestehend aus Hefe, Kristallen, schwarzen Schollen und einer ganzen Anzahl verschiedener Stäbchen und Kokken. Die zentrifugierte Tusche erweist sich dann fast frei von Verunreinigungen.

Tafelerklärung.

- I. *Spirochaete pallida* aus einer nässenden Papel.
 - II. Mäusespirille mit Geißeln (Mausblut).
 - III. *Recurvospirille*.
 - IV. Belag bei Plaut-Vincent'scher Angina.
 - V. Spirillen aus Stalljauche.
 - VI. *Trypanosoma* (Nagana) im Mausblut.
 - VII u. VIII. Blutplättchen in normalem Menschenblut.
- Vergrößerung ca. 1:1000.
 I, II, VI phot. Hoffmann.
 III, IV, V, VII, VIII phot. Dr. Gins.

Inhalt.

- v. Betegh, L.**, Beiträge zum Entwicklungsgange der Sarcosporidien, p. 566.
- Fermi, Claudio**, Sur le trypanosan, trypanrot, trypanblau et parafuchsin dans l'immunisation contre la rage, p. 574.
- , Comparaison entre le pouvoir lyssicide et immunisant du sérum antirabique de différents animaux et de différents instituts, p. 576.
- , Comparaison entre le pouvoir immunisant et lyssicide du sérum antirabique des chiens traités avec mon vaccin, avec le vaccin Pasteur, avec le virus de rue et avec la substance nerveuse normale, p. 583.
- Gins, H. A.**, Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens, p. 620.
- Kathe und Blasius**, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuer Typhusnährböden, p. 586.
- Megele**, Erfahrungen mit dem neuen Malachitgrün-Agar Padlewskys zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe, p. 616.
- Truffi, Mario**, Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen, p. 555.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

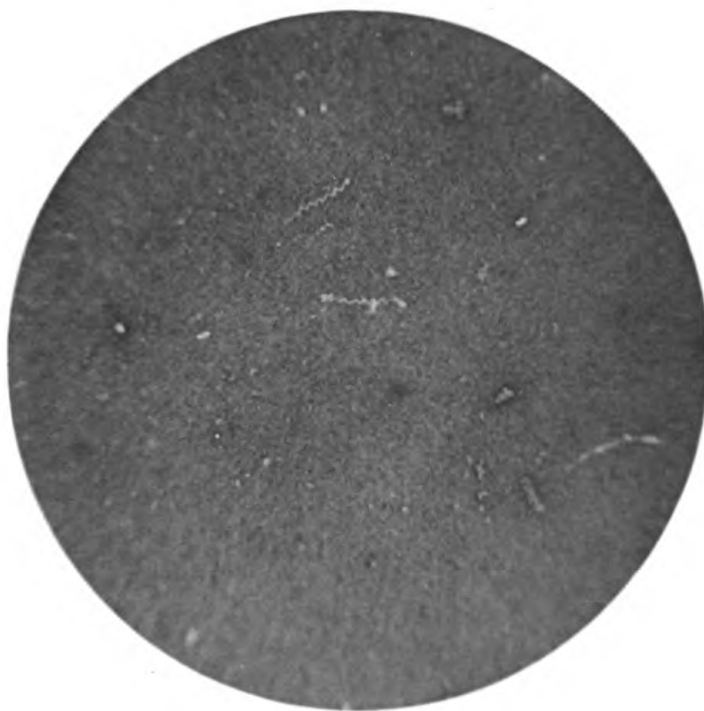


Fig. I.

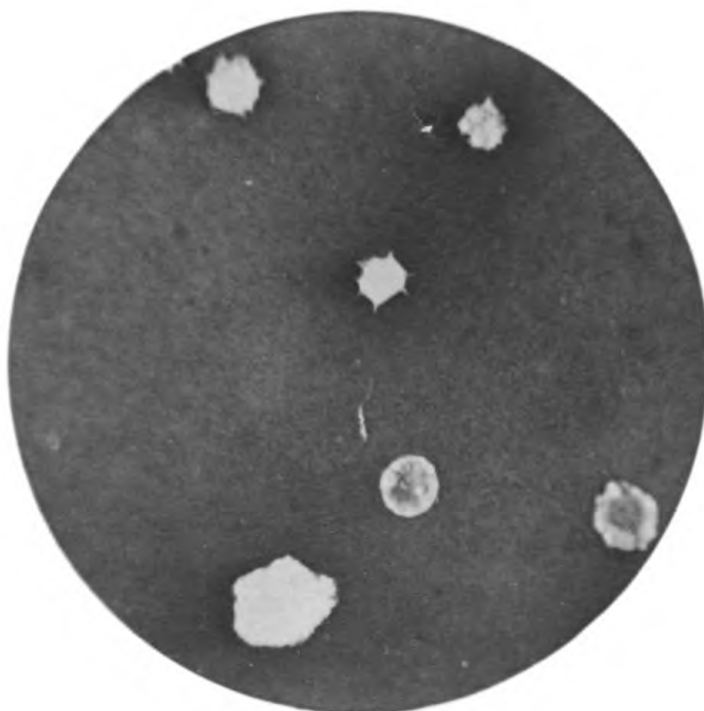


Fig. II.

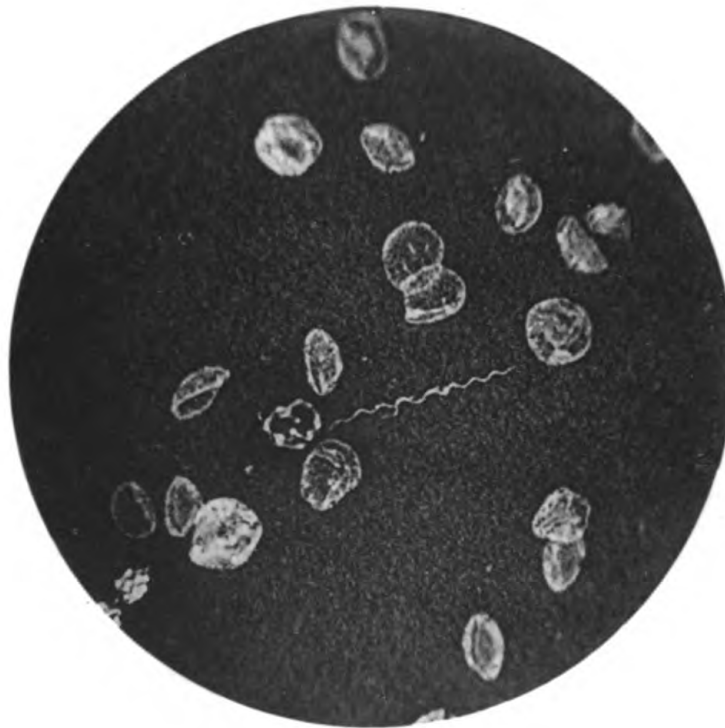


Fig. III.

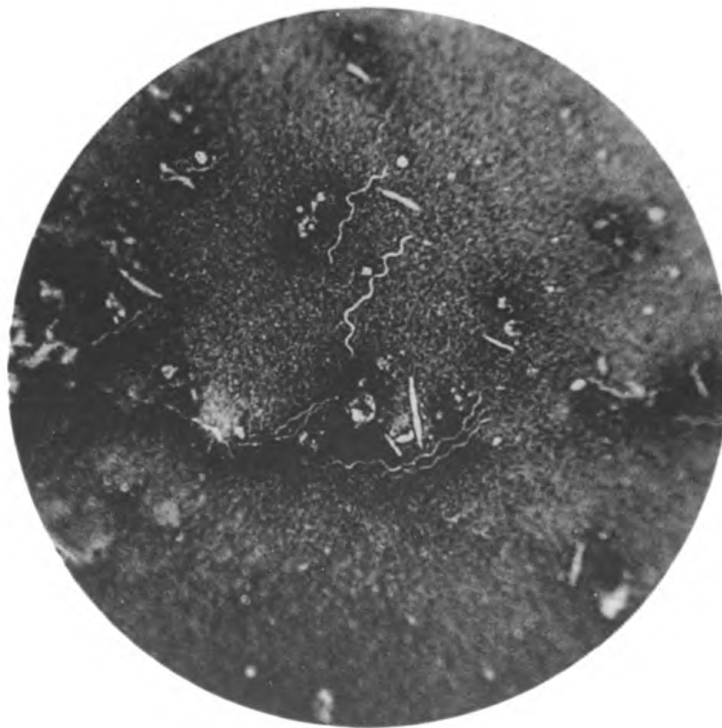


Fig. IV.

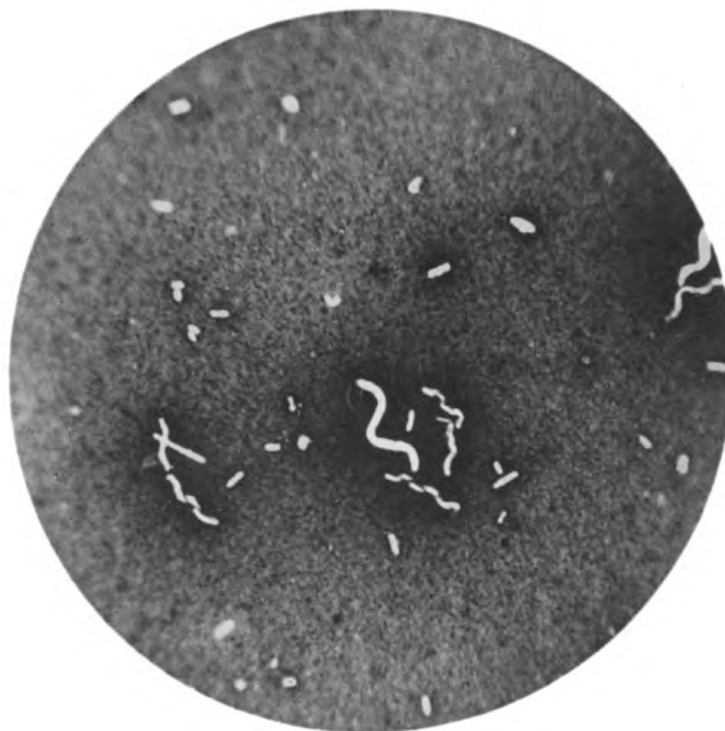


Fig. V.

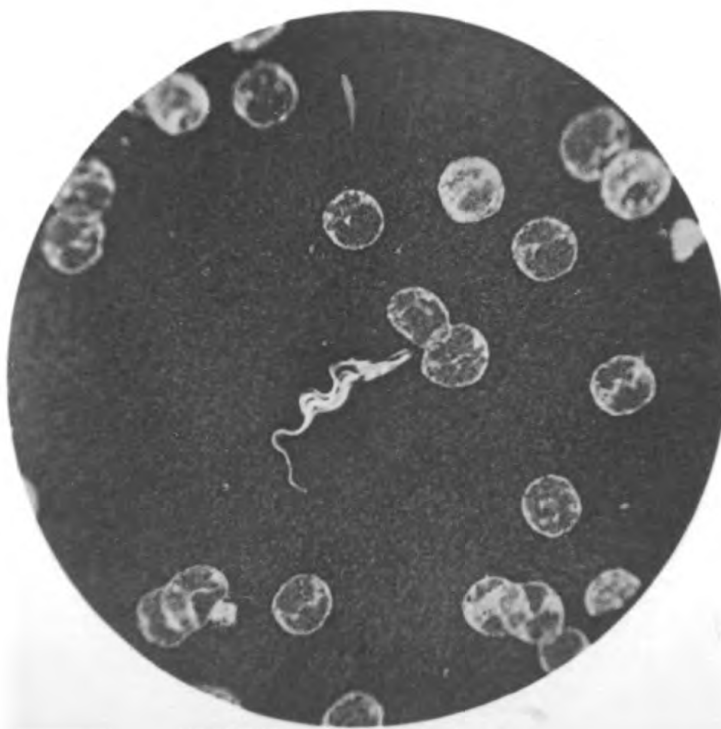


Fig. VI.

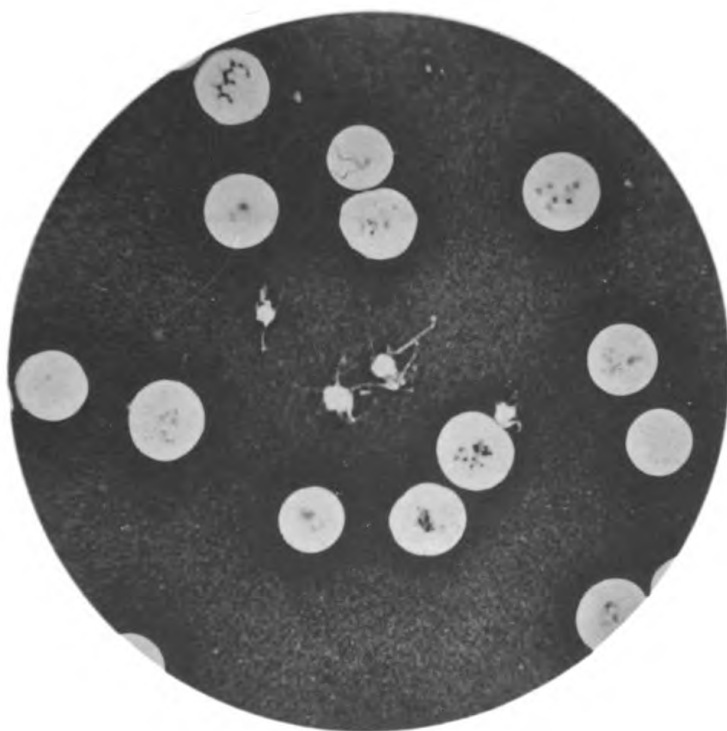


Fig. VII.

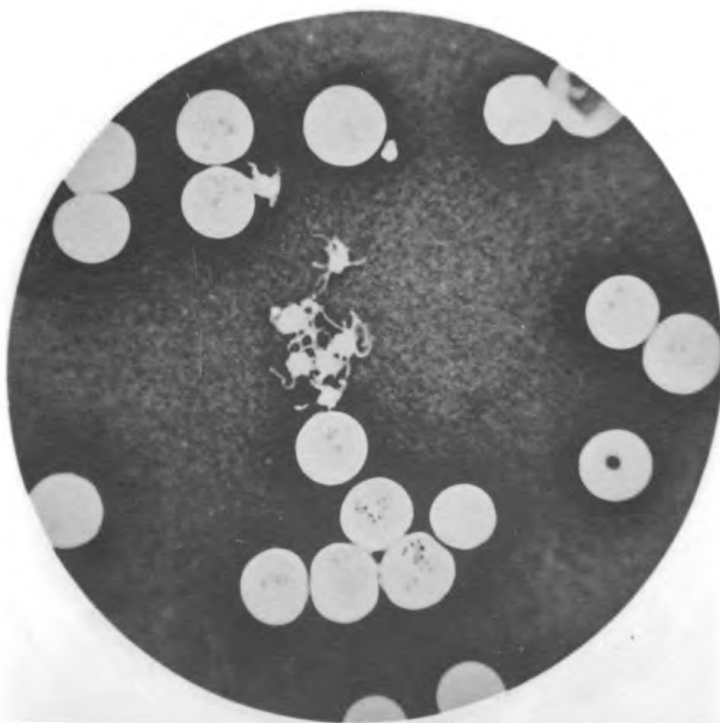


Fig. VIII.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 52 enthaltenen Arbeiten.

- Aschenheim, E.**, Serumkomplementbestimmung in homologem System. 424
- Bahr, L.**, Die Resultate der Versuche zur rationellen Rattenvertilgung mittelst Präparate des Laboratoriums. 441
- Bergman, Arvid M.**, Ueber kongenitale Tuberkulose beim Rindvieh. 193
- v. Betegh, L.**, Beiträge zum Entwicklungsgange der Sarcosporidien. 566
- , Ueber eine neue Methode zur Darstellung der Sporen und Struktur bei den säurefesten Bakterien. 550
- Bierbaum, K. s. Froesch, P.**
- Blasius s. Kathe.**
- Busse, Otto**, Vorkommen und Verbreitung der Trichinen im Regierungsbezirk Posen. 368
- Cano, U.**, La rage ab ingestis dans les souris. 29
- Cardamatis, Jean P.**, Le paludisme des oiseaux en Grèce. Étude biologique et histologique du parasite de Danilewsky. 551
- Castellani, Aldo**, Observations on typhoid vaccination in man with attenuated live cultures. 92
- Ceraulo, S. s. Pollaci, G.**
- Drosdowitsch, R. s. Sineff, A.**
- Eber, A.**, Weitere Beobachtungen über Anwendung des v. Behringschen Tuberkuloseschutzimpfverfahrens in der Praxis, nebst einem Nachtrag über Taurumanimpfungen. 389
- Elmassian, M.**, Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, *Entamoeba minuta* n. sp. 1^{re} Mémoire. Morphologie — Evolution — Pathogénie. 335
- Esch, P.**, Ein Beitrag zur Züchtung des *Meningococcus*. 150
- Fantham, H. B. and Porter, Annie**, *Bacillus arenicolae* n. sp.; a pathogenic Bacterium from the gut-epithelium of *Arenicola ecaudata*. 329
- Felber s. Strubell.**
- Fermi, Claudio**, Action de l'éther, de l'alcool, de la glycérine et de la vieillesse sur le pouvoir antirabique chez les murides de la substance nerveuse rabique et normale. 538
- , Sur l'action lyssicide de la papaine et du suc blanc de *Ficus carica*. 265
- , Aufnahmefähigkeit der Muriden gegenüber der Tollwut durch Ingestion des Wutmaterials je nach den verschiedenen Monaten des Jahres. Immunisierung ab ingestis gegen die Infektion ab ingestis. 239
- Fermi, Claudio**, Comparaison entre le pouvoir immunisant et lyssicide du sérum antirabique des chiens traités avec mon vaccin, avec le vaccin Pasteur, avec le virus de rue et avec la substance nerveuse normale. 583
- , Comparaison entre le pouvoir lyssicide et immunisant du sérum antirabique de différents animaux et de différents instituts. 576
- , Nochmals über die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten. 99
- , Sur l'influence de substances favorisantes et obstacolantes la leucocytose sur le pouvoir immunisant de la substance nerveuse normale. 537
- , Sur le pouvoir immunisant contre la rage chez les murides des diverses parties du système nerveux d'animaux enrégés et sains. Note seconde. 536
- , Sur le traitement local de l'infection rabique par des substances lyssicides, la cautérisation, l'amputation et l'hyperémie à la Bier. 96
- , Sur le trypanosan, trypanrot, trypanblau et parafochsin dans l'immunisation contre la rage. 574
- , Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die Mikroorganismen und der Mikroorganismen auf die Enzyme. 252
- Fonteyne**, Agglutine et antiagglutine. 377
- , Anti-hémolysines ou anti-sensibilisatrices. 387
- Fromme, W.**, Ueber das Vorkommen von *Pulex cheopis* auf Schiffsratten und Schiffsmäusen. 243
- Froesch, P. und Bierbaum, K.**, Ueber eine durch den *Bacillus septicaemiae anserum exsudativae* (Riemer) bedingte Gänse-seuche, zugleich ein Beitrag zur Frage der Pseudoinfluenzabacillen. 433
- Gallandat Huet, Rudolf Hendrik Johan**, Samenbläschen als Virusträger. 477
- Gengou, O.**, Du pouvoir auxilytique du sérum de cobaye normal. 515
- Gins, H. A.**, Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens. 620
- Gleickel, D.**, Vergleichende Untersuchungen der biochemischen Eigenschaften des *Bacillus osteomyelitis* Henke mit denen

- des *Staphylococcus aureus*, *citreus* und *Bact. coli comm. une.* 318
- Hachla, J. und Holobut, Th.**, Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Cholera-vibrien. 299
- Hadley, Philip B.**, Regarding the value of the Van Gieson and the Romanowsky malarial stains for the detection of *Coccidia*. 147
- Hess, Alfred F.**, Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal. 190
- Holobut, Th. s. Hachla, J.**
- Kathe und Blasius**, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuer Typhusnährböden. 586
- Kitt, Th.**, Nachtrag zu meinem Artikel: „Eine praktische Pipette.“ 431
- Konrádi, Daniel**, Die Vererbung der Immunität gegen *Lyssa*. 497
- Kozewaloff, S.**, Zur Frage über die Struktur der sogenannten „Passagewutkörperchen“ von Lentz. 6
- Laubenheimer, Kurt**, Der Dieudonné'sche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Cholera-vibrien. 294
- v. Linstow, Davainea provincialis.** 75
- Megele**, Erfahrungen mit dem neuen Malachitgrün-Agar Padlewskis zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe. 616
- Mehlrose, Reinhold**, Ueber das Vorkommen von Bakterien in den Echinokokken und Cysticerken und ihre Bedeutung für das Absterben dieser Zooparasiten. 43
- Mereshkowsky, S. S.**, Ueber die Eigentümlichkeiten des *Bac. typhi spermophilorum* in Medien, welche Trauben- oder Milchzucker enthalten. 427
- , Verfütterungsversuche an grauen Hausmäusen mit einem erneuerten Stamme des *Zieselytyphusbacillus* (*Bacillus typhi spermophilorum*). 1
- , Virulenz des erneuerten Stammes des *Zieselytyphusbacillus* (*Bacillus typhi spermophilorum*) bei subkutaner Injektion am Ziesel. 4
- Miessner und Trapp**, Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehung zur Syphilisreaktion. 115
- Mosebach**, Ueber das Vorkommen von Typhusbacillen in von Typhusbacillenträgern benutzten Abortgruben. 170
- Neumann, R. O.**, *Leishmania tropica* im peripheren Blute bei der Dehlieule. 469
- Noguchi, Hideyo**, Ueber die Einwirkung von Seifen auf die Lebensfähigkeit und immunisierende Eigenschaft des *Tuberkelbacillus*. 85
- Petterson, Alfred**, Antwort auf die Bemerkungen von Dr. Weil zu meiner Arbeit „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion des Meerschweinchens.“ 114
- Plehn, Marianne**, Die Furunkuloseepidemie der Salmoniden in Süddeutschland. Vorläufige Mitteilung. 468
- Pollack, G.**, Einige Modalitäten der Technik in der Ausführung der Wrightschen Agglutinationsreaktion. Klinisch-bakteriologische Mitteilung. 108
- und **Ceraulo, S.**, Die Agglutinationsvermögen einiger Körperflüssigkeiten beim Meditteranfieher. Klinisch-bakteriologische Untersuchungen. 268
- Porter, Annie s. Fantham, H. B.**
- Rabinowitsch, Marcus**, Ueber die Flecktyphusepidemie in Kiew. Vorläufige Mitteilung. 173
- Raskin, Marie**, Gibt es ein antiendotoxisches Choleraserum? 539
- Repetto, R.**, Antiwutimpfung, vorgenommen an einigen Hunden mittels einer Mischung von Fermischem Vaccin und Antiwutserum vom Pferde. 264
- Revenstorf**, Bericht über die Ergebnisse von Virulenzprüfungen an alten Peststämmen. 161
- Riquier, Joseph Karl**, Die Larve von *Pomphorhynchus laevis* Zoega (= *Echinorhynchus proteus* Westr.) in der *Tinca vulgaris* und dessen experimentell erzielte Entwicklung in *Esox lucius*. 248
- Rodenwaldt, E.**, *Trypanosoma Lewisi* in *Haematopinus spinolosus*. 30
- Romanelli, G.**, Ueber inaktivierte Sera. Vorläufige und zusammenfassende Mitteilung über einige auf Immunität sich beziehende Fragen. 532
- Saul, E.**, Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. X. Mitteilung. Schluß. 235
- Schmid, Gerhard**, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum. 200
- Schmidt, Otto**, Beiträge zur experimentellen Carcinomforschung. 11
- Sineff, A. und Drosdowitsch, R.**, Prof. Dieudonné's Blutkaliagar, ein neuer Nährboden für die bakteriologische Diagnose der Cholera. 429
- Streng, Osw.**, Agglutinin oder Konglutinin? 523
- Strubell und Felber**, Ueber die Fehlerquellen bei der Bestimmung des opsonischen Index. 406
- Tomarkin, E.**, „Anios.“ Ein neues Desinfektionsmittel. 104
- , Neue Lympheverreibungsmaschine. (Für trockene und glyzerinierte Substanz.) 157
- Trapp s. Miessner.**
- Truffi, Mario**, Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen. 555
- Vay, Franz**, Ueber körnchenartige Bildungen in Pestbakterien. 305
- Vetrano, G.**, Bakteriolytische und antitoxische Wirkung der Galle. Experimentelle Untersuchungen. 275
- Vincenzi, Livio**, Normale Cerebrospinal-

- flüssigkeit als Nährboden für pathogene Bakterien. 154
Weichhardt, Wolfgang, Ueber Eiweiß-überempfindlichkeit und Beeinflussung des Zellstoffwechsels. 77
Werner, H., Ueber Befunde von Darm-spirochäten beim Menschen. 241
Wolff-Elsner, A., Bakteriologische Unter-suchungen über Händedesinfektion, spe-ziell mit Dermagummit. 286
Xylander, Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtner-Gruppe. 455
Yakimoff, W. L., Die Zecken und Piro-plasmen des Igels. 472

II. Sachverzeichnis.

- Abortgruben, Paratyphusbacillen in den von Paratyphusbacillenträgern benutzten 171
 —, Typhusbacillen in den von Typhus-bacillenträgern benutzten. 170
Aether, Wirkung auf die antirabische Kraft der Nervensubstanz. 538
Agar, Blutalkali- als Nährboden für Cholera-vibrionen. 294. 299. 429
Agglutination s. a. Agglutinin.
 — der Bakterien durch Serum. 523
 — zur Maltafieberdiagnose. 108. 268
 — des Microc. melit. durch Blutserum. 269
 — — durch Harn. 272
 — — durch Speichel 269
 — — durch Vesikantienserum. 268
 — bei Rotz. 120
Agglutinin s. a. Agglutination.
Agglutinin und Antiagglutinin. 377
 —, Anti- s. Antiagglutinin.
 — u. Konglutinin, Unterschiede. 523
Aleppobeule s. Orientbeule.
Aleuronat, Wirkung auf d. antirabische Kraft d. Nervensubstanz. 537
Alkohol, Wirkung auf d. antirabische Kraft der Nervensubstanz. 538
Alter, Wirkung auf d. antirabische Kraft d. Nervensubstanz. 539
Ambozeptor, Anti- s. Antiambozeptor.
Amoeba s. a. Entamoeba.
Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Angina Vincenti, Diagnose mittels Tusche-verfahrens. 622
Anios, Desinfektionsmittel. 104
 —, Wirkung auf Bakterien. 104
Antiagglutinin und Agglutinin. 377
Antiambozeptor. 387
Anti-antitoxin. 383
Antihämolyse. 387
Antisensibilisatrice. 387
Antitoxin, Anti-. 383
 —, Ricin-Anti-. 385
Arenicola ecaudata, Wirt von Bac. areni-colae n. sp. 329
Aspergillus candicans, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
 — **flavescens**, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
 — **fumigatus**, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
Aspergillus niger, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — —, Wirkung von proteolyt. Enzymen. 254
Auge, Hornhautinfektion, syphilitische, beim Kaninchen. 556
Auxilysin des Serums d. normal. Meer-schweinchens. 515
Bacillenträger, Samenbläschen als B. 477
 —, Verbreitung des Paratyphus. 170
 —, — des Typhus. 170
Bacillus anthracis s. a. Milzbrand.
 — —, Wirkung von Anios. 106
 — —, — von Dermagummit. 291
 — **arenicolae n. sp.** vom Darmepithel von **Arenicola ecaudata**. 329
 — — —, Morphologie. 330
 — — —, Sporenbildung, Teilung. 332
 — **botulinus**, Wirkung auf proteolyt. En-zy-me. 261
 — **cavica**, Wirkung auf proteolyt. En-zy-me. 261
 — **cholerae gallinarum**, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
 — **coli s. a. Bacterium coli**.
 — —, Wachstum auf verschied. Nährböden. 593
 — —, Wirkung von Anios. 105
 — —, — von Dermagummit. 291
 — —, — von Galle. 283
 — —, — auf proteolyt. Enzyme. 259
 — —, — von proteolyt. Enzymen. 254
 — **diphtheriae** ähnl. Bakterien, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 64
 — —, Wirkung von Anios. 106
 — **dysenteriae**, Wirkung von Galle. 283
 — **enteritidis Gärtner**, Beziehung zum Ratinbacillus. 455
 — **fluorescens**, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 259
 — **Friedländer**, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — **megatherium**, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — **mesentericus** Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 259
 — **mycoides**, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 65
 — **osteomyelitis Henke**, biochem. Eigen-schaften. 318

- Bacillus paracoli**, Vorkommen in d. Samenbläschen. 491
- **paratyphi**, Anreicherung mit Malachitgrünagar. 601. 616
- —, Vorkommen in Abortgruben (von *Paratyphusbacillenträgern* benutzten). 171
- —, Wachstum auf verschied. Nährböden. 594
- —, Wirkung von Galle. 283
- — **B**, Beziehung zum *Ratinbacillus*. 456
- **pestis**, Färbung. 305
- —, Granula. 305
- —, Morphologie. 305
- —, Virulenz alter Stämme. 161
- **prodigiosus**, Aufsteigen im Darmkanal nach d. Munde. 192
- —, Wirkung von Dermagummit. 291
- —, — auf proteolyt. Enzyme. 261
- —, — von proteolyt. Enzymen. 254
- **putrificus**, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
- **pyocyaneus**, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
- —, — von proteolyt. Enzymen. 254
- , **Ratin-**, Beziehung zur *Bac. enteritidis* Gärtner-Gruppe. 455
- —, — zu *Bac. paratyphi B*. 456
- —, Toxinbildung. 461
- **septicaemiae anserum exsudativae**, Erreger einer Gänseseuche. 433
- — —, kultur. u. morphol. Eigenschaften. 436
- **subtilis**, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 65
- —, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
- **suisepcticus** ähnl. Bakterien, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 64
- **tuberculosis s. a. Tuberkulose**. 553
- —, Färbung. 85
- —, Wirkung von Seifen. 85
- **typhi s. a. Typhus abdominalis**. 92
- —, abgeschwächter, zur Immunisierung gegen Typhus. 92
- —, Anreicherung. 589. 616
- —, — mit Brillantgrün - Pikrinsäureagar. 591
- —, — durch Galle. 590
- —, — mit Malachitgrünagar. 590. 616
- —, — mit Säurefuchsinagar. 590
- —, Differentialdiagnose. 586. 616
- —, Nährböden, Leistungsfähigkeit älterer u. neuerer. 586
- —, Vorkommen in Abortgruben (von *Typhusbacillenträgern* benutzten). 170
- —, Wachstum auf verschied. Nährböden. 593
- —, Wirkung von Anios. 105
- —, — von Dermagummit. 291
- —, — von Galle. 283
- —, — auf proteolyt. Enzyme. 261
- —, — von proteolyt. Enzymen. 254
- —, — Gruppe, Nachweis mit Malachitgrünagar. 616
- — **spermophilorum**, Gasbildung in Trauben- oder Milhzucker enthalt. Medien. 428
- Bacillus typhi spermophilorum** zur Mäusebekämpfung. 1. 4
- — —, Pathogenität für Mäuse. 1
- — —, — für Ziesel. 4
- — —, Virulenz ein. 8-jährigen Bouillonkultur. 1. 4
- — —, Wachstum in Trauben- oder Milhzucker enthalt. Medien. 427
- Bacterium coli s. a. Bacillus coli**. 427
- —, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 63
- — **commune**, biochem. Eigenschaften. 318
- — —, Vorkommen in d. Samenbläschen. 491
- **rubrum**, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
- Bakterien**, Agglutination durch Serum. 523
- , Aufsteigen durch d. Darmkanal nach dem Munde. 190
- in Cysticerken. 43
- —, Bedeutung für das Absterben derselb. 43. 71
- , Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 622
- in Echinokokken. 43
- —, Bedeutung für das Absterben derselb. 43. 71
- , Einzellkultur. 620
- , Färbung. 305. 550
- , Granula. 305
- , Konglutination durch Serum. 523
- , Kultur, Einzell-. 620
- —, Pipette für dieselbe. 431
- —, Tuschepunkt-. 620
- , Paratuberkulose-, Färbung. 553
- , pathogene, Kultur auf Cerebrospinalflüssigkeit. 154
- , Pseudoinfluenza-, Beitrag. 439
- , säurefeste, Färbung. 550
- , Sporen, Darstellung. 550
- , Struktur, Darstellung. 550
- , Tuscheverfahren. 620
- , Vorkommen in den Samenbläschen. 489
- , Wirkung von Anios. 104
- —, — von Dermagummit. 291
- —, — von Galle. 281
- —, — auf proteolyt. Enzyme. 252. 258
- —, — von proteolyt. Enzymen. 254
- —, — auf Trypsin. 255
- Bakteriolyse** durch Galle. 275
- Blut-Alkaliagar** als Elektivnährboden für *Cholera*vibrionen. 294. 299. 429
- Blut-Körperchen**, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 623
- Blut**, *Leishmania tropica* im peripher. Bl. bei d. Orientbeule. 469
- Blut-Parasiten** der Vögel. 351
- Blut-Plättchen**, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 623
- Bovovaccin** zur Immunisierung gegen Rindertuberkulose. 389

- Brillantgrün-Pikrinsäureagar zum Nachweise d. *Bac. typhi*. 591
- Carcinom, Aetiologie. 22
- -Forschung, experimentelle. 11
- , Mäuse, Rolle des *Mucor racemosus*. 16
- Ceratophyllus fasciatus*, Morphologie. 245
- , Vorkommen auf Ratten. 245
- Cerebrospinalflüssigkeit als Nährboden für pathog. Bakterien. 154
- Chinin zur Behandlung der Malaria der Vögel. 363
- , Wirkung auf *Halteridium Danilewsky*. 363
- Cholera s. a. *Vibrio Cholerae*.
- , antiendotoxisches Serum gegen dieselbe. 539
- , Diagnose mittels Blutalkaliagars [Dieudonné]. 294. 301. 429
- , Immunisierung. 539
- -Infektion, intraperitoneale, Wirkung der Leukozyten. 114
- Coccidium cuniculi*, Färbung nach Gieson u. Romanowsky. 147
- Crithidia haematopii* n. sp. Patton, Kritik. 31
- Ctenopsylla musculi*, Vorkommen auf Ratten. 245
- Cysticercus* s. a. *Cysticerken*.
- *cellulosae*, Vorkommen von Bakterien. 52
- *inermis*, Vorkommen von Bakterien. 52
- *pisiformis*, Vorkommen von Bakterien. 52
- *tenuicollis*, Vorkommen von Bakterien. 52
- Cysticerken* s. a. *Cysticercus*.
- , Absterben, Rolle der Bakterien. 43. 71
- -Flüssigkeit, chem. Zusammensetzung. 65
- , Vorkommen von Bakterien. 43
- Darm von *Arenicola ecaudata*, *Bac. arenicolae* in demselb. 329
- , Aufsteigen von Bakterien in demselb. nach d. Munde. 190
- , *Entamoeba minuta* in demselb. 335
- , *Spirochaete eurygyrata* u. *Sp. steno-gyrate* in demselb. 242
- Davainea provincialis* n. sp., Beschreibung, Vorkommen. 75
- Dehlibeule s. Orientbeule.
- Dermagummit zur Händedesinfektion. 286
- , Wirkung auf Bakterien. 291
- Dermatocentor riticulatus*-Nymphen auf dem Igel. 473
- , Uebertragung d. Piroplasmose. 475
- Desinfektion mit Anios. 104
- der Hände mit Dermagummit. 286
- Diphtherie, Geflügel- s. Geflügel-Diphtherie.
- , Hühner- s. Geflügel-Diphtherie.
- -Toxin, Wirkung von Galle. 285
- Diplobacillen, Typhus exanthem., Ursache desselb. 179
- Druse, Samenblasen als Bacillenträger. 492
- Eber, Samenblasen, bakteriolog. Untersuchung. 491
- Echinococcus multilocularis*, Vorkommen von Bakterien. 54
- *polymorphus*, Vorkommen von Bakterien. 54
- Echinokokken, Absterben, Rolle der Bakterien. 43. 71
- -Flüssigkeit, chem. Zusammensetzung. 65
- , Vorkommen von Bakterien. 43
- Echinorhynchus proteus* Westr. s. *Pomphorhynchus laevis* Zoega.
- Eiweiß-Ueberempfindlichkeit. 77
- Elektivnährboden für *Bac. typhi*. 586. 616
- für *Vibrio cholerae* [Blutalkaliagar]. 294. 299. 429
- Entamoeba coli*, Pathogenität. 348
- *histolytica*, Pathogenität. 348
- *minuta* n. sp., Entwicklung. 341
- — —, Morphologie. 338
- — —, Pathogenität. 347
- — —, Vorkommen im Darms. 335
- Enzyme, proteolyt., Wirkung auf Bakterien. 254
- , —, — auf Mikroorganismen. 252
- , —, — von Mikroorganismen. 252
- Epithelioma contagiosum* u. Geflügeldiphtherie, Beziehungen. 200
- Erinaceus europaeus*, Piroplasmose. 472
- Esox lucius*, Wirt von *Pomphorhynchus laevis*. 250
- Färbung des *Bac. pestis*. 305
- — *tuberculosis*. 553
- des *Coccidium cuniculi* nach Gieson u. Romanowsky. 147
- nach Gram, Modifikation. 550
- der Paratuberkulosebakterien. 553
- Fermente s. a. Enzyme.
- Ficus carica*-Saft, Wirkung auf Wutvirus. 265
- Fieber, Mediterran- s. Maltafieber.
- Flecktyphus s. Typhus exanthematicus.
- Flöhe, Pestübertragung. 243
- der Ratten. 245
- Flüssigkeit, Cerebrospinal- s. Cerebrospinalflüssigkeit.
- , *Cysticerken*-, chem. Zusammensetzung. 65
- , Echinokokken-, chem. Zusammensetzung. 65
- Fötus, Tuberkulose. 194
- Francolinus adspersus*, Wirt von *Davainea provincialis* n. sp. 75
- Furunkulose der Salmoniden, Ursache. 468
- Gänse-Seuche, durch *Bac. septicaemiae anserum exsudativae verurs.* 433
- Galle, antitoxische Wirkung. 285
- , bakteriolyt. Wirkung. 275
- zum Nachweise des *Bac. typhi*. 595. 616
- , Wirkung auf *Bac. coli*. 283
- , — auf *Bac. dysenteriae*. 283
- , — auf *Bac. paratyphi*. 283
- , — auf *Bac. typhi*. 283
- , — auf Bakterien. 281
- , — auf Diphtherietoxin. 285
- , — auf Pneumokokken. 282
- , — auf Streptokokken. 283
- Gas, Bildung durch *Bac. typhi* spermophilorum. 428
- Geflügel-Diphtherie u. *Epithelioma contagiosum*, Beziehungen. 200

- Geflügel-Diphtherie, klin. Bild. 207
 — -Pocken u. -Diphtherie, Beziehungen. 200
 Gehirn s. Hirn.
 Geschwülste, Aetiologie u. Biologie. 235
 Glukose, Wirkung auf d. antirabische Kraft d. Nervensubstanz. 537
 Glycerin, Wirkung auf d. antirabische Kraft d. Nervensubstanz. 539
 Granula des Bac. pestis. 305
 Griechenland, Vogelmalaria. 351
 Haematopinus spinulosus, Entwicklung von Trypanos. lewisi in demselb. 30
 — —, Uebertragung des Trypanos. lewisi auf Ratten. 39
 Hämolyse. 424
 —, auxilyt. Serumwirkung. 515
 — durch Serum. 424
 Hämolysin, Anti- s. Antihämolysin.
 Halteridium Danilewsky, Entwicklung. 357
 — —, Erreger der Vogelmaria in Griechenland. 351
 — —, Morphologie. 354
 — —, Wirkung von Chinin. 363
 Hand-, Desinfektion mit Dermagummit. 286
 Harn, Agglutination des Microc. melit. 272
 Haut d. Kaninchens, Uebertragung d. Syphilis. 555
 Hecht s. Esox lucius.
 Hefe, Wirkung auf Pepsin. 257
 —, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 252
 —, Wirkung auf Trypsin. 255
 Hirn zur Immunisierung gegen Wut (per os). 240
 — zur Immunisierung gegen Wut, Wirkung verschied. Teile. 536
 Hornhaut, Syphilisinfection bei Kaninchen. 556
 Hund, Wut, Immunisierung. 264
 —, Wut-Immunität, Vererbung derselb. 497
 Igel, Piroplasmose, durch Piroplasma ninnense verursacht. 472
 —, Zecken desselb. 472
 —, Zwischenwirt für Dermatocentor reticulatus-Nymphen. 473
 Immunisierung gegen Cholera. 539
 — gegen Kenotoxin. 81
 — per os. 240
 — gegen Syphilis [Kaninchen]. 561
 — gegen Tuberkulose. 533
 — gegen Tuberkulose d. Rinder mit Bovovaccin. 589
 — gegen Tuberkulose d. Rinder mit Tauruman. 395
 — gegen Tuberkulose d. Rinder mit Tbc.-Bacillen-Emulsion. 589
 — gegen Tuberkulose mit durch Seifen abgeschwächt. Tbc.-Bacillen. 87
 — gegen Typhus mit lebend. Kulturen. 92
 — gegen Wut. 239. 264. 498. 536—538. 574. 576. 583
 — gegen Wut mit Hirnschubstanz per os. 240
 Immunisierung gegen Wut mit Nervensubstanz. 536—538
 — gegen Wut mit Trypanosan, Trypanrot, Trypanblau u. Parafuchsin. 574
 Immunität gegen Wut, angeborene, Dauer. 506
 — gegen Wut, Vererbung. 497
 Inaktivierung von Seris. 532
 Index, opsonischer, Bestimmung, Fehlerquellen. 406
 —, —, bei Tuberkulose. 396. 415
 —, —, — d. Rinder. 396
 Infektionskrankheiten, Samenbläschen als Virusträger. 477
 Influenza, Pseudo- s. Pseudoinfluenza.
 Kala-azar u. Orientbeule, Zusammenhang. 469
 Kaninchen, Samenblasen, bakteriell. Untersuchung. 492
 —, Syphilis, Hautinfection. 555.
 —, —, Hornhautinfection. 556
 —, —, Immunisierung. 561
 —, —, Komplementbindung (Wassermann). 562
 —, Wut, Inkubationszeit in den verschied. Monaten. 240
 Karbolsäure zur Wutbehandlung. 96
 Karzinom s. Carcinom.
 Kenotoxin, Immunisierung gegen dasselbe. 81
 —, Wirkung. 81
 Kiew, Flecktyphusepidemie. 173
 Körperchen, Wut- s. Wut-Körperchen.
 Komplementbestimmung in homologem System. 424
 Komplementbindung zur Rotzdiagnose. 115
 — bei Syphilis, Beziehung zur Komplementbindung bei Rotz. 115
 — (Wassermann) bei Syphilis d. Kaninchens. 562
 Konglutination der Bakterien durch Serum. 523
 Konglutinin u. Agglutinin, Unterschiede. 523
 Leishmania tropica im peripher. Blute bei d. Orientbeule. 469
 Leukozyten, Wirkung bei intraperitonealer Cholerainfection. 114
 Leukozytose befördernde u. hemmende Substanzen, Wirkung auf d. antirabische Kraft d. Nervensubstanz. 537
 Liquor cerebrospinalis s. Cerebrospinalflüssigkeit.
 Lympheverreibungsmaschine. 157
 Lysin, Auxi- s. Auxilysin.
 Lyssa s. Wut.
 Mäuse, Bacillus typhi spermophilorum, Pathogenität für dieselben. 1
 —, Bekämpfung mit Bac. typhi spermophilorum. 1. 4
 — -Carcinom, Rolle des Mucor racemosus. 16
 —, Pulex cheopis auf denselb. 246
 —, Wut, Infection ab ingestis. 29. 239

- Malachitgrünagar zur Anreicherung des
 Bac. paratyphi B. 601. 616
 — des Bac. typhi. 590. 616
 Malaria, Uebertragung auf Vögel [erfolg-
 los]. 365
 —, Vogel-, in Griechenland, durch Halte-
 ridium Danilewsky verurs. 351
 —, Vogel-, Uebertragung. 362
 Mallein, Wirkung auf d. Agglutination des
 Rotzbacillus. 140
 —, Wirkung auf d. Komplementbindung
 bei Rotz. 140
 Maltafieber, Agglutination des Microc. melit.
 durch Blutserum. 269
 —, — — — durch Harn. 272
 —, — — — durch Speichel. 269
 —, — — — durch Vesikantienserum. 268
 —, Diagnose mittels Agglutination. 108.
 268
 Mark, verlängertes, zur Immunisierung
 gegen Wut. 537
 Mediterranfieber s. Maltafieber.
 Meerschweinchen, auxilyt. Wirkung des
 normal. Serums. 515.
 —, Samenblasen, bakteriöl. Untersuchung.
 492
 Meerzwiebel s. Scilla maritima.
 Meningococcus, Kultur. 150
 Mensch, Darmspirochäten bei demselb. 241
 Micrococcus melitensis, Agglutination, Tech-
 nik. 108
 — — —, — durch Harn. 272
 — — —, — durch Serum. 269
 — — —, — durch Speichel. 269
 — — —, — durch Vesikantienserum. 268
 — tetragenus, Vorkommen in Echinokokken
 u. Cysticerken. 63
 — — —, septicus, Wirkung auf proteolyt.
 Enzyme. 261
 — — —, Wirkung von proteolyt. Enzymen.
 254
 Mikroorganismen, Wirkung auf proteolyt.
 Enzyme. 252
 —, — von proteolyt. Enzymen. 252
 Milchsäure, Wirkung auf d. antirabische
 Kraft d. Nervensubstanz. 537
 Milchzucker, Vergärung durch Bac. typhi
 spermophilorum. 428
 Milzbrand, Samenblasen als Bacillenträger.
 492
 Mucor mucedo, Wirkung proteolyt. Enzyme.
 254
 — racemosus, Carcinom d. Maus, Rolle bei
 demselb. 16
 — —, Immunisierung gegen Rattensarkom
 mittels desselb. 16
 — —, Sarkom d. Ratte, Rolle bei demselb.
 13
 Muriden, Wut. 29. 99. 239. 536—538. 574.
 576. 584
 —, Wut, Empfänglichkeit in den verschied.
 Monaten. 239
 —, Wut, Immunisierung. 536—538. 574.
 576. 584
 —, Wut-Infektion ab ingestis. 29. 239
 Mus alexandrinus, Pulex cheopis auf dem-
 selb. 246
 — musculus, Bacillus typhi spermophil.,
 Pathogenität. 1
 — rattus, Pulex cheopis auf demselben. 246
 Nährboden für Bac. typhi, Leistungsfähig-
 keit älterer und neuerer. 586
 —, Cerebrospinalflüssigkeit als N. für
 pathog. Bakterien. 154
 —, Elektiv- für Bac. typhi. 586. 616
 —, — für Vibrio cholerae [Blutalkaliagar].
 294. 299. 429.
 — für Meningokokken. 150
 Nervensubstanz zur Immunisierung gegen
 Wut. 240. 536—538
 — — — (per os). 240
 — — —, Wirkung d. Leukozytose be-
 fördernd. u. hemmend. Substanzen. 537
 — — —, Wirkung verschiedener Faktoren.
 537. 538
 Oelseifen, Wirkung auf Bac. tubercul. 85
 Oidium albicans, Wirkung proteolyt. En-
 zyme. 254
 — lactis, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254.
 Opsonine, Index - Bestimmung, Fehler-
 quellen. 406
 —, — bei Tuberkulose. 396. 415
 —, — — d. Rinder. 396
 —, Technik [Tuscheverfahren]. 624
 Orientbeule u. Kala-azar, Zusammenhang.
 469
 —, Leishmania tropica im peripher. Blute.
 469
 Papain, Wirkung auf Mikroorganismen. 254
 —, — auf Wutvirus. 265
 Parafuchsin zur Immunisierung gegen Wut.
 575
 Paratuberkulose-Bakterien, Färbung. 553
 Penicillium brevicaulis, Wirkung proteolyt.
 Enzyme. 254
 — glaucum, Wirkung proteolyt. Enzyme.
 254
 Pepsin, Wirkung auf Mikroorganismen. 254
 Pest, Uebertragung durch Flöhe. 243
 —, — durch Pulex cheopis. 244
 Pferde, Samenblasen, bakteriöl. Unter-
 suchung. 489
 Pikrinsäure-Brillantgrünagar zum Nach-
 weise d. Bac. typhi. 591
 Pipette für Bakterienzüchtung u. Sero-
 diagnostik. 431
 Piroplasma ninense n. sp., Erreger der
 Piroplasmose d. Igels, Beschreibung. 474
 Piroplasmose des Igels, durch Piroplasma
 ninense verurs. 472
 —, Uebertragung durch Dermatocentor
 reticulatus. 475
 Pleuropneumonie d. Kälber, Samenblasen
 als Bacillenträger. 492
 Pneumococcus, Wirkung der Galle. 282
 Pocken, Geflügel- s. Geflügel-Pocken u. a.
 Epithelioma contagiosum des Geflügels.
 Pomphorhynchus laevis Zoega, Entwickel-
 ung im Hechte. 250
 — — —, Larve, Morphol. derselb. 248

- Pomphorhynchus laevis* Zoega, Morphologie. 250
 — — —, Vorkommen in *Tinca vulgaris*. 248
- Proteus vulgaris*, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 64
Pseudoinfluenzabacillen, Beitrag. 439
Pulex cheopis, Morphologie. 245
 — —, Uebertragung der Pest. 244
 — —, Vorkommen auf Mäusen (Schiffs-). 246
 — *felis*, Vorkommen auf Ratten. 245
 — *irritans*, Morphologie. 245
 — —, Vorkommen auf Ratten (Schiffs-). 245
- Ratin zur Rattenbekämpfung. 441. 455
 Ratin II, Bestandteile. 462
 — II zur Rattenbekämpfung. 445. 462
 — II, Unschädlichkeit für Haustiere. 447
 Ratinin zur Rattenbekämpfung. 445
 —, Unschädlichkeit für Haustiere. 448
 Ratten, Bekämpfung mit Ratin. 441. 455
 —, — mit Ratin II. 445. 462
 —, Bekämpfung mit Ratinin. 445
 —, Flöhe derselb. 245
 —, Immunität gegen Ratinbacillen. 442
 —, *Pulex cheopis* auf denselb. 245
 — - Sarkom, Immunisierung mit *Mucor racemosus*. 16
 — —, Rolle des *Mucor racemosus*. 13
 —, *Trypanosoma lewisi*, Uebertragung desselb. durch *Haematopinus spinulos*. 39
 —, Trypanosomiasis. 39
 Rauschbrand, Samenblasen als Bacillenträger. 492
 Ricin-Anti-antitoxin. 385
 Rinder, Tuberkulose s. Tuberkulose, Rinder-
 Rotlauf, Samenblasen als Bacillenträger. 492
 Rotz, Agglutinationsreaktion. 120
 —, Diagnose mittels Komplementbindung. 115
 —, Komplementbindung. 118
 Rückenmark zur Immunisierung gegen Wut. 537
Saccharomyces albus, Wirkung proteolyt. Enzyme. 254
 Säurefuchsin zum Nachweise des *Bac. typhi*. 590
 Salmoniden, Furunkuloseepidemie, Ursache. 468
 Samenbläschen, Anatomie u. Histologie. 481
 —, bakteriell. Untersuchung. 489
 —, Physiologie. 487
 — als Virusträger. 477
Sarcina lutea, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 63
Sarcocystis blanchardi, Sporozoiten. 571
 — *tenella*, Sporozoiten. 568
Sarcopsylla gallinacea, Vorkommen auf Ratten. 245
 Sarcosporidien, Entwicklungsgang. 566
 Sarkom, Ratten-, Immunisierung mit *Mucor racemosus*. 16
 — —, Rolle des *Mucor racemosus*. 13
 Schimmelpilze, Wirkung auf Pepsin. 257
- Schimmelpilze, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 252
 Schleie s. *Tinca vulgaris*.
Scilla maritima-Extrakt, wirks. Bestandteil des Ratin II. 465
 Seifen, Wirkung auf *Bac. tubercul.* 85
 Sensibilisatrice, Anti- s. Antisensibilisatrice.
 Serum, Agglutination s. a. Agglutination u. Agglutinin.
 —, antiendotoxisches, gegen Cholera. 539
 —, antirabisches, verschieden immunisierter Hunde, Vergleich d. immunisier. Wirkung. 583
 — —, verschied. Tiere u. verschied. Institute, Vergleich d. immunisier. Wirk. 576
 —, Antituberkulose-, inaktiviertes, Untersuchung. 533
 —, auxilytische Wirkung. 515
 —, hämolyt. Wirkung. 424
 —, inaktiviertes, Untersuchungen. 532
 — Komplementbestimmung in homologem System. 424
 —, Vesikantien-Agglutination des *Microc. melit.* 268
 — wutgiftfester Tiere, Wirkung auf Wutvirus. 507
 Serumbehandlung der Cholera. 539
 — der Tuberkulose. 533
 — der Wut. 264. 576. 583
 Serundiagnose des Maltafiebers. 108. 268
 —, Pipette für dieselbe. 431
 — des Rotzes. 115
 Speichel, Agglutination des *Microc. melit.* 269
- Spermophilus guttatus* s. Ziesel.
 Spirillen, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 622
Spirochaete eurygyrata n. sp., Beschreibung, Vorkommen im Darne. 242
 — obermeieri, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 622
 — *pallida*, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 622
 — —, Syphilis, Nachweis u. Vorkommen. 555
 — *stenogyrate* n. sp., Beschreibung, Vorkommen im Darne. 242
 Sporen, Färbung. 550
Staphylococcus pyogenes albus, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 62
 — — —, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — — *aureus*, biochem. Eigenschaften. 318
 — — —, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 62
 — — —, Vorkommen in d. Samenbläschen. 491
 — — —, Wirkung von Anios. 105
 — — —, — auf proteolyt. Enzyme. 261
 — — *citreus*, biochem. Eigenschaften. 318
 — — —, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 62
 — — *flavus*, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 62

- Staphylokokken, Wirkung von Dermagummit. 291
 Stauungshyperämie zur Wutbehandlung. 97
 Stiere, Samenblasen, bakteriolog. Untersuchung. 491
 Stoffwechsel, Zell-, Beeinflussung. 81
 Streptococcus brevis, Vorkommen in Echinokokken u. Cysticerken. 65
 Streptokokken, Vorkommen in d. Samenbläschen. 491
 —, Wirkung von Dermagummit. 291
 —, Wirkung von Galle. 283
 Sublimat zur Wutbehandlung. 96
 Syphilis, Immunisierung [Kaninchen]. 561
 —, Kaninchen, Hautinfektion. 555
 —, —, Hornhautinfektion. 556
 —, —, Komplementbindung (Wassermann). 562
 —, Komplementbindung (Wassermann), Beziehung zur Komplementbindung bei Rotz. 115
 —, Spirochaete pallida, Nachweis u. Vorkommen. 555
 Tauruman zur Immunisierung gegen Tuberkulose der Rinder. 395
 Tetragenus septicus, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 Tetragenus septicus, Wirkung von proteolyt. Enzymen. 254
 Tinca vulgaris, Wirt von Pomphorhynchus laevis. 248
 Toxin, Cholera-, Neutralisierung durch d. Serum Schurupoff. 546
 —, Diphtherie-, Wirkung von Galle. 285
 —, Keno- s. Kenotoxin. 461
 — des Ratinbacillus. 461
 Traubenzucker, Vergärung durch Bac. typhi spermophilorum. 428
 Trichinen, Verbreitung u. Vorkommen im Reg.-Bezirk Posen. 368
 Trypanblau zur Immunisierung gegen Wut. 575
 Trypanosoma lewisi, Entwicklung in Haematopinus spinulosus. 30
 — —, Uebertragung durch Haematopinus spinulosus auf Ratten. 39
 Trypanosomen, Darstellung mit d. Tuscheverfahren. 622
 —, Entwicklungskreis. 30
 Trypanosomiasis der Ratten. 39
 Trypanrot zur Immunisierung gegen Wut. 574
 Trypanosan zur Immunisierung gegen Wut. 574
 Trypsin, Wirkung auf Mikroorganismen. 254
 Tuberkulin zur Diagnose d. Tuberkulose d. Rinder. 389
 Tuberkulose, Anti-Tbc.-Serum, inaktiviertes. 533
 —, Immunisierung mit durch Seife abgeschwächt. Tbc.-Bacillen. 87
 —, kongenitale, der Rinder. 193
 —, opson. Index. 396. 415
 Tuberkulose, Para- s. Paratuberkulose u. Bakterien, Paratuberkulose.
 —, Rinder-, Diagnose mittels Tuberkulins. 389
 —, —, Immunisierung mit Bovovaccin. 389
 —, Rinder-, Immunisierung mit Tauruman. 395
 —, —, — mit Tbc.-Bacillen-Emulsion. 389
 — der Rinder, kongenitale. 193
 —, Rinder-, opson. Index. 396
 —, —, Schutzimpfung nach Behring. 389
 Tumoren s. Geschwülste.
 Tuscheverfahren, Technik u. Verwendbarkeit. 620
 Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
 — —, Agglutinin und Antiagglutinin. 377
 — —, Antiagglutinin u. Agglutinin. 377
 — —, Immunisierung mit lebend. Kulturen. 92
 — exanthematicus, Aetiologie. 179
 — —, Epidemie in Kiew. 173
 — —, Epidemiologie. 181
 Ueberempfindlichkeit, Eiweiß-. 77
 Vaccination gegen Typhus mit lebend. Kulturen. 92
 — gegen Wut. 264
 Vererbung d. Immunität gegen Wut. 497
 Vesikantienserum, Agglutination des Microc. melit. 268
 Vibrio cholerae s. a. Cholera.
 — — ähnliche Vibrionen, Nährboden, Elektiv- [Blutalkaliagar]. 297. 301. 430
 — —, Anreicherung durch Blutalkaliagar. 294. 299. 429
 — —, Nährboden, Elektiv- [Blutalkaliagar]. 294. 299. 429
 — —, Toxin, Neutralisierung durch d. Serum Schurupoff. 546
 — —, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — —, — von proteolyt. Enzymen. 254
 — massauensis, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 — —, — von proteolyt. Enzymen. 254
 — septicus, Wirkung auf proteolyt. Enzyme. 261
 Virus, Vorkommen in d. Samenbläschen. 477
 Vögel, Infektionsversuch mit Plasmodium praecox u. P. vivax. 365
 — Malaria in Griechenland durch Halteridium Danilewsky verursa. 351
 — —, Uebertragung. 362
 —, Wirte von Halteridium Danilewsky. 351
 Widder, Samenblasen, bakteriolog. Untersuchung. 491
 Wut, Behandlung, lokale durch Amputation. 97
 —, —, —, mit Karbolsäure. 96
 —, —, —, mit Kauterisation. 97
 —, —, —, durch Stauungshyperämie. 97
 —, —, —, mit Sublimat. 96
 — der Hunde, Immunisierung. 264
 —, immunisier. Wirkung d. antirab. Serums verschieden immunisierter Hunde. 583
 —, — d. antirab. Serums verschied. Tiere u. verschied. Institute. 576

- Wut, Immunisierung. 239. 264. 498. 536—
538. 574. 576. 583
—, — mit Trypanosan, Trypanrot, Trypan-
blau u. Parafuchsin. 574
—, — Immunität, angeborene, Dauer. 506
—, —, Vererbung. 497
—, — der Kaninchen, Inkubationszeit in d.
verschied. Monaten. 240
—, — Körperchen, Lentz'sche Passage-, Struk-
tur, Vorkommen. 6
—, —, Negrische, Bau. 6
—, — der Mäuse, Infektion vom Verdauungs-
kanal aus. 29. 239
—, — der Muriden. 29. 99. 239. 536—538.
574. 576. 584
—, —, Empfänglichkeit in den verschied.
Monaten. 239
—, —, Immunisierung. 536—538. 574. 576
—, —, Infektion vom Verdauungskanal aus.
29. 239
- Wut, Serum wutgiftfester Tiere, Wirkung
auf Wutvirus. 507
—, — -Virus, fixes, Differenz d. Virulenz des
aus verschied. Instituten stammenden.
99
—, —, Wirkung d. antirab. Serums ver-
schied. Tiere u. verschied. Institute. 576
—, —, Wirkung d. antirab. Serums ver-
schieden immunisierter Hunde. 585
—, —, — von Ficus carica-Saft. 265
—, —, — von Papain. 265
—, —, — des Serums giftfester Tiere. 507
Zecken des Igels. 472
Zell-Stoffwechsel, Beeinflussung. 81
Ziesel, Bac. typhi spermophilorum, Patho-
genität. 4
Zieseltyphusbacillus s. Bacillus typhi sper-
mophilorum.
Zucker, Milch- s. Milchezucker.
—, Trauben- s. Traubenzucker.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Angina Vincenti, Belag. (Taf. II, Fig. 4). 626
Arenicola ecaudata-Darm mit Bac. are-
nicolae. (Taf., Fig. 1.) 334
Bacillen, Pseudoinfluenza- d. Brustseuche
d. Kaninchens. 436
Bacillus arenicolae n. sp. im Darmepithel
von Arenicola ecaudata. (Taf., Fig. 1.) 334
—, —, Morphologie, Sporen etc. (Taf.,
Fig. 2—31.) 334
—, — haemoglobinophilus canis, Kultur. 437
—, — influenza, Reinkultur. 435
—, — pestis, körnchenartige Bildungen. (Taf.)
318
—, —, Morphologie. (Taf.) 318
—, — septicaemiae anserum exsudativae, Kul-
turen etc. 434. 435
Blutplättchen, mittels Tuscheverfahrens dar-
gestellt. (Taf. IV.) 626
Ceratomyxa fasciatus, Borstenkamm. (Taf.,
Fig. 6.) 248
Chlamydomyces stercorae. (Taf. II, Fig. 37,
40, 41.) 350
Crithidia-Form des Trypanosoma lewisi.
(Taf. II, Fig. 16—25; Taf. III, Fig. 52
—58, 60.) 42
Cysticercus inermis, Durchschnitt. (Taf.,
Fig. 3.) 74
Darm-Spirochäten beim Menschen (Taf.)
243
Davainea provincialis n. sp., Anatomie. 75
Diphtherie, Geflügel-. 215. 216
Echinococcus, Leber- des Rindes in Ver-
käsung, Durchschnitt. (Taf., Fig. 2.) 72. 74
Entamoeba coli. (Taf. II, Fig. 42, 48, 52,
53.)
— minuta n. sp. (Taf. I, Taf. II, Fig. 36.)
350
Finne, Rinder- in Verkäsung, Durchschnitt.
(Taf., Fig. 3.) 74
Fötus, Rinder-, tuberkul. Veränderungen.
196
Geflügel-Diphtherie. 215. 216
Geflügel-Pocken. 215. 216
Hahn, Pocken. 215. 216
Halteridium Danilewsky, Entwicklung,
Morphologie, etc. (Taf. I, II.) 359. 361.
367
Leber-Echinococcus des Rindes in Ver-
käsung, Durchschnitt. (Taf., Fig. 2.)
72. 74
Leptomonas-Form des Trypanosoma lewisi.
(Taf. II, Fig. 26, 27.) 42
Lymphverreibungsmaschine. 158. 159
Lymphmühle. 158. 159
Milz-Tuberkulose eines Rinderfötus. 196
Piroplasma ninense n. sp. des Igels, Mor-
phologie. (Taf.) 477
Pocken, Geflügel-. 215. 216
Pomphorhynchus laevis in Esox lucius.
250
—, — -Larve in Tinca vulgaris. 248. 249
Pseudoinfluenzabacillen d. Brustseuche d.
Kaninchens. 436
Pulex cheopis, Morphologie. (Taf., Fig. 1
—3.) 248
— irritans, Morphologie. (Taf., Fig. 4. 5.)
248
Rinder-Finne s. Finne, Rinder-
Rinderfötus, tuberkul. Veränderungen. 196
Sarcocystis blanchardi, Entwicklung, Spo-
rozoiten. (Taf. II.) 573
— tenella, Entwicklung, Sporozoiten. (Taf.
I.) 573
Spirillen, Mäuse-, mittels Tuscheverfahrens
dargestellt. (Taf. I, Fig. 2.) 626

- Spirillen, mittels Tuscheverfahrens dargestellt. (Taf. I, Fig. 2; Taf. II, Taf. III, Fig. 5.) 626
- Spirochaete eurygyrata n. sp. (Taf.) 243
- Spirochaete obermeieri, mittels Tuscheverfahrens dargestellt. (Taf. II, Fig. 3.) 626
- pallida, mittels Tuscheverfahrens dargestellt. (Taf. I, Fig. 1.) 626
- stenogyrata n. sp. (Taf.) 243
- Trypanosoma brucei, mittels Tuscheverfahrens dargestellt. (Taf. III, Fig. 6.) 626
- Trypanosoma lewisi, Crithidia - Form. (Taf. II, Fig. 16—25; Taf. III, Fig. 52—58, 60.) 42
- —, in Haematopinus spinulosus. (Taf. I—III.) 42
- —, Leptomonas-Form. (Taf. II, Fig. 26, 27.) 42
- —, Morphologie. (Taf. I—III.) 35. 42
- Trypanosomen, Morphologie. (Taf. I—III.) 35. 42
- Tuberkulose der Milz eines Rinderfötus. 196
- eines Rinderfötus. 196
- Verreibungsmaschine, Lymphe-. 158. 159

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

**AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

Book Slip-15m-8,'52(A2573s4)458

102902

QR1

Z. f. bakt.

Z4

Abt. 1:1

Z. f.

QR1

Z4

Abt. 1:1

V. 52

102902

